

1216

Prevalence and incidence of myocardial dysfunction and chronic heart failure in type 1 diabetes — a still unresolved issue

Ewa Konduracka¹, Maciej Małecki², Grażyna Cieślak³,
Danuta Galicka-Latała², Paweł Rostow¹,
Artur Pietrucha¹, Jadwiga Nessler¹

¹Coronary Heart Diseases Clinic, Jagiellonian University School of Medicine, John Paul II Hospital, Cracow

²Chair and Clinic of Metabolic Diseases, Cracow

³Metabolic Diseases Treatment Center, Cracow

Background: Diabetic patients (DP) are exposed to an increased risk of chronic heart failure (CHF), as compared to the non-diabetic ones, yet a majority of studies to date focused on type 2 diabetes. Consequently, prevalence and incidence of CHF in type 1 diabetes still remains an unresolved issue.

Aims: To evaluate prevalence and incidence of myocardial dysfunction and CHF in long-lasting type 1 diabetes, estimated by echocardiography, levels of NT-pro BNP, chest radiographs and clinical symptoms.

Methods: 1217 type 1 DP (baseline mean age 51.29 ± 10.37 years) and 1204 non-diabetic controls, matched in gender and age, following initial clinical examinations, underwent a 7-year follow-up in terms of CHF.

Results: There were no differences between the prevalence of CHF in DP (3.70% vs. 2.54% in the controls; $p = 0.07$), whereas the incidence was 0.02% per year vs. 0.01%, respectively. Only in both coronary and hypertensive subjects diastolic CHF was revealed in 32.26% of DP and 14.29% of the controls; $p = 0.006$, whereas both diastolic and systolic CHF occurred in 10.75% of DP vs. in 12.99% of the controls; $p = 0.65$.

Conclusions: In the era of modern insulin therapy, CHF in type 1 diabetes manifests itself only when it is actually complemented with hypertension or coronary disease. In hypertensive DP the incidence of CHF was similar to the hypertensive controls, which might potentially be due to pharmacotherapy. It was the coexistence of coronary disease, hypertension, nephropathy and ageing in DP that actually caused higher incidence of CHF in DP vs. the controls.

1228

Badanie przeciwmiażdżycowego potencjału beta-blokerów, ze szczególnym uwzględnieniem nebiwololu — na modelu eksperymentalnym miażdżycy: myszy z wyłączonym genem dla apolipoproteiny E (*apoE-knockout mice*)

Katarzyna Kuś, Jacek Jawień, Ryszard Korbut

Katedra Farmakologii, Collegium Medicum,
Uniwersytet Medyczny, Kraków

Ostatnie badania wykazały dobroczynne działanie kardiologiczne nebiwololu — beta-adrenolityku III generacji. Hipoteza robocza niniejszej pracy zakładała, że nebiwolol może hamować rozwój zmian miażdżycowych. Badania prowadzone były na najnowszym eksperymentalnym modelu zwierzęcym miażdżycy: myszach z wyłączonym genem dla apolipoproteiny E (myszy *apoE-knockout*) — jedynym, jak dotąd, w Polsce. Poddano badaniu 30 samic myszy *apoE-knockout* w wieku 8 tygodni (podzielonych na grupy o liczebności $n = 10$), o podłożu genetycznym C57BL/6J. Oprócz grupy kontrolnej, grupy eksperymentalne (w każdej $n = 10$) otrzymywały tę samą dietę, zmieszaną z nebiwolelem w dawce 2 $\mu\text{mol/kg mc./dobę}$ oraz z metoprololem w dawce 90 mg/kg mc./dobę . W wieku 6 miesięcy wszystkie myszy poddano eutanazji i pobrano od nich osocze, serca i wypreparowane aorty. Aorty różniły się stopniem miażdżycy pomiędzy grupą kontrolną a grupami, którym podawano leki. Mierzony metodą „*en face*” procent całkowitej powierzchni aorty zajętej przez barwione Sudanem IV zmiany wynosił: w grupie kontrolnej $14,6 \pm 2,1\%$, podczas gdy w grupie traktowanej nebiwolelem $9,23 \pm 1,8\%$ ($p < 0,05$), zaś w grupie otrzymującej metoprolol $12,4 \pm 2,1\%$ ($p > 0,05$). „*Cross-section*” korzeni aorty ujawnił również różnicę w powierzchni zmian miażdżycowych. Liczona w 8 kolejnych skrawkach średnia zmian \pm SEM zajętych przez barwione ORO zmiany wynosiła: $91\,416 \pm 8\,357 \mu\text{m}^2$ w grupie kontrolnej przeciwko $63\,125 \pm 8\,455 \mu\text{m}^2$ w grupie otrzymującej nebiwolol ($p < 0,05$), zaś $82\,947 \pm 9\,373 \mu\text{m}^2$ w grupie z podawanym metoprololem ($p > 0,05$). Podane związki nie zmieniły w sposób statystycznie znamiennej profilu lipoproteinowego cholesterolu w osoczu oraz całkowitego stężenia cholesterolu i triglicerydów. Wskaźniki zapalenia: sVCAM-1, MCP-1, IL-6, IL-12 oraz SAA wykazywały tendencję do spadku pod wpływem nebiwololu. Niniejsze badanie jest pierwszym na świecie doniesieniem, w którym wykazano na najnowszym eksperymentalnym modelu zwierzęcym miażdżycy pozytywny efekt farmakologicznego podawania nebiwololu na proces aterogenezy.

1737

Beneficial effects of L-leucine and L-valine on arrhythmias, hemodynamics and myocardial morphology in rats

Katarzyna Mitrega¹, Michał Żorniak¹, Benoy Varghese¹,
Dariusz Lange², Jerzy Nożyński³, Szymon Białka¹,
Tadeusz F. Krzemiński¹

¹Chair and Department of Pharmacology, Medical University of Silesia, Zabrze

²Department of Tumor Pathology, M. Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Gliwice Branch, Gliwice

³Silesian Centre for Heart Diseases, Zabrze

Branched chain amino acids (BCAA) have been shown to have a general protective effect on the heart in different animal

models as well as in humans. However, so far no attempt has been made to specifically elucidate their influence on arrhythmias. Our study was performed to evaluate whether an infusion of either L-leucine or L-valine in a dose of 1 mg/kg/h 10 min before a 7-min period of left anterior descending artery occlusion followed by 15 min of reperfusion, had an effect on arrhythmias measured during the reperfusion phase in the ischemia- and reperfusion-induced arrhythmias model in rats *in vivo*. The effect of the infusion of these substances on mean arterial blood pressure was monitored throughout the experiment. Both of the tested amino acids exhibited significant antiarrhythmic properties. L-leucine reduced the duration of ventricular fibrillation ($p < 0.05$) and L-valine decreased the duration of ventricular fibrillation ($p < 0.001$) and ventricular tachycardia ($p < 0.05$). The two amino acids were generally hypotensive. L-valine lowered blood pressure in all phases of the experiment ($p < 0.05$) while L-leucine lowered this parameter mainly towards the end of occlusion and reperfusion ($p < 0.05$). In addition, 30 min infusion of the amino acids in the used dose did not produce any apparent adverse histological changes that were remarkably different from control. In summary, the results of our study suggest that L-leucine and L-valine in the dose that was used attenuates arrhythmias and are hypotensive in their influence. Our findings lend support to the many ongoing investigations into the benefit of the application of L-leucine and L-valine in cardiology like their addition to cardioplegic solutions.

1738

Hamujący wpływ aliskirenu na rozwój zakrzepicy żyłnej u szczura

Justyna Magdalena Hermanowicz, Agnieszka Leszczyńska, Karol Kramkowski, Andrzej Mogielnicki, Włodzimierz Buczek

Zakład Farmakodynamiki, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, Białystok

Dotychczasowe badania wskazują na istnienie powiązań między układem RAS a procesami krzepnięcia i fibrylizacji (Thromb Haemost 1997, Circulation 1993). Między innymi wykazano, że mechanizm korzystnego wpływu leków blokujących RAS na układ sercowo-naczyniowy związany jest z zahamowaniem procesu zakrzepowego, a efekt ten zależy od uwalniania ze śródbłonka tlenu azotu (NO) i prostacyliny (PGI₂) (J Physiol Pharmacol 1999, Thromb Haemost 1998). Pojedyncze doniesienia sugerują, że aliskiren, pierwszy doustny inhibitor reniny, poza właściwościami hipotensyjnymi może posiadać również działanie przeciwzakrzepowe (Hypertension 2008). Celem niniejszego badania była ocena wpływu aliskirenu na żylny proces zakrzepowy u szczurów normotensyjnych (Wistar) oraz szczurów z nadciśnieniem naczyniowo-nerkowym (2K-1C). Zbadano również potencjalny udział NO w tym procesie. Po 6 tygodniach 2K-1C rozwinęły nadciśnienie naczyniowo-nerkowe (2K-1C wg Goldblatta) (ciśnienie skur-

czowe powyżej 140 mm Hg). Zwierzęta otrzymywały aliskiren w dawce 10, 30, 100 mg/kg p.o. przez 10 dni. Zakrzepicę żylną wywoływano poprzez podwiązanie żyły głównej brzusznej wg Reyers i wsp. W osoczu oznaczono aktywność t-PA, PAI-1 metodą immunoenzymatyczną ELISA. Aliskiren w najwyższej dawce (100 mg/kg) obniżył skurczowe ciśnienie tętnicze krwi (SBP) w grupie zwierząt nadciśnieniowych ($168 \pm 4,79$ mm Hg przed v. $150 \pm 4,37$ mm Hg po podaniu aliskirenu; * $p < 0,05$). Nie stwierdzono natomiast zmian SBP u zwierząt normotensyjnych. Zaobserwowano zależne od dawki zmniejszenie masy uformowanego zakrzepu u osobników hipertensyjnych ($0,39 \pm 0,16$; $0,31 \pm 0,1$ i $0,13 \pm 0,09$ mg odpowiednio w dawkach 10, 30, 100 mg/kg v. $0,6 \pm 0,13$ mg w grupie kontrolnej; NS; NS; * $p < 0,05$), jak również u osobników normotensyjnych ($0,37 \pm 0,05$; $0,32 \pm 0,13$; $0,10 \pm 0,07$ mg odpowiednio w dawkach 10, 30, 100 mg/kg v. $0,68 \pm 0,17$ mg w grupie kontrolnej; NS; NS; * $p < 0,05$). Wykazano także wzrost aktywności t-PA ($1,56 \pm 0,17$; $1,62 \pm 0,17$; $2,29 \pm 0,35$ ng/ml odpowiednio dla dawek 10, 30, 100 mg/kg v. $1,33 \pm 0,14$ w grupie kontrolnej; NS; NS; * $p < 0,05$) oraz brak wpływu aliskirenu na aktywność PAI-1 ($3,95 \pm 0,33$; $4,26 \pm 0,21$; $4,38 \pm 0,38$ ng/ml odpowiednio dla 10, 30, 100 mg/kg v. $4,06 \pm 0,17$ w grupie kontrolnej; NS; NS; NS). Podanie inhibitora syntazy tlenu azotu (L-NAME) (30 mg/kg s.c.) skutkowało zniesieniem przeciwzakrzepowego działania aliskirenu. Podsumowując uzyskane wyniki, można stwierdzić, że aliskiren poprzez wzrost aktywności fibrynolitycznej hamuje rozwój zakrzepicy żyłnej, prawdopodobnie w mechanizmie zależnym od NO, a niezależnym od ciśnienia krwi.

1739

Charakterystyka fenotypów komórek śródbłonka serca podczas angiogenezy i limfangiogenezy w rozwoju osobniczym myszy

Aleksandra Flaht¹, Maria Madej², Anna Ratajska¹

¹Katedra i Zakład Anatomii Patologicznej, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa

²Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Anatomii Patologicznej, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa

Przedmiotem pracy było zweryfikowanie hipotezy, że fenotypy komórek śródbłonka wykazują dynamiczną zmienność w czasie poprzedzającym oraz podczas formowania się naczyń limfatycznych i krwionośnych w sercu płodowym. Serca pochodzące z różnych etapów rozwoju płodowego myszy badano pod względem ekspresji antygenów śródbłonka naczyniowego metodami immunohistochemicznymi. Analizę prowadzono w mikroskopach świetlnym, konfokalnym i stereoskopowym. Proces angiogenezy rozpoczyna się od bieguna żylnego serca i postępuje od bruzdy przedsionkowo-komorowej powierzchni przeponowej serca w kierunku obu koniuszków. Początkowo w rejonie bruzdy przedsionkowo-komorowej serca w stadium

11,5 dpc pojawiają się struktury podobne do tubul naczyniowych wykazujące obecność antygenów Lyve i CD31. Na pozostalej powierzchni serca dostrzega się pod nasierdziem pojedyncze, rozproszone komórki Lyve+, które nie mają charakteru angioblasta/śródbłonka, gdyż brak w nich ekspresji antygeny CD31. Rozmieszczenie tych komórek wykazuje gradient: jest ich najwięcej przy bruzdzie przedsionkowo-komorowej, a najmniej w kierunku koniuszków serca. Gradient ten zanika w stadium 13,5 dpc. Rozproszone pojedyncze komórki o fenotypie Lyve+, CD31- znajdują się pomiędzy tubulami naczyniowymi do końca życia płodowego, a nawet w okresie postnatalnym. Komórki Lyve+, w miarę dalszego rozwoju, grupują się w skupienia nietworzące początkowo światła, ale wykazujące ekspresję antygeny połączeń międzykomórkowych śródbłonka naczyniowego: VE-kadheryny. Niektóre skupienia komórek składają się z dwóch populacji: o fenotypach Lyve+ lub CD31+. Podczas formowania się światła naczynia/tubul naczyniowych ekspresja Lyve pokrywa się z ekspresją antygeny CD31 w większości komórek śródbłonka. Pomiedzy komórkami śródbłonka zróżnicowanych naczyń występuje antygen połączeń międzykomórkowych VE-kadheryna; antygen ten jest również obecny w odgałęzieniach angiogenychnych penetrujących do miokardium z podnasierdzia. W niektórych naczyniach komórki śródbłonka wykazują odmienny fenotyp: populacja komórek o fenotypie Lyve+ CD31- lokalizuje się obok populacji komórek Lyve-, CD31+. Czynniki transkrypcyjny Prox-1 pojawia się w populacji komórek śródbłonka bieguna żylnego serca w stadium 13 dpc oraz w śródbłonkach w pobliżu wielkich naczyń serca (aorty i pnia płucnego) w 15 dpc. Znajdowany jest także w populacji komórek o fenotypie Lyve+ tworzącej struktury naczyniowe. Czynniki transkrypcyjny Prox-1 obecny jest również w niektórych komórkach wsierdzia (przy płatkach zastawek przedsionkowo-komorowych). Wyniki wskazują, że naczynia o fenotypie Lyve+ pochodzą z komórek progenitorowych Lyve+ rozproszonych pod nasierdziem. Komórki te nie mają charakteru śródbłonka/angioblasta (CD31-), ale nabywają go po utworzeniu światła naczynia. Antygen Lyve, podobnie jak Prox1 nie jest charakterystyczny jedynie dla komórek śródbłonka naczyń limfatycznych.

1740

„Wyspy krwiotwórcze” serca myszy jako struktury progenitorowe powstających naczyń wieńcowych w życiu osobniczym

Maria Madej¹, Aleksandra Flaht²,
Ewa Jankowska³, Anna Ratajska²

¹Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Anatomii Patologicznej, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa

²Katedra i Zakład Anatomii Patologicznej, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa

³Katedra i Zakład Histologii i Embriologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa

Nazwa „wyspy krwiotwórcze” wywodzi się z opisu struktury o budowie pęcherzyka otoczonych śródbłonkiem naczyniowym oraz zawierających erytroblasty. Wyspy krwiotwórcze są źródłem erytroblastów i strukturami początkowymi dla nowopowstających naczyń krwionośnych pęcherzyka żółtkowego zarodka. Struktury podobne do wysp krwiotwórczych znaleziono także w sercu płodowym w początkowym okresie tworzenia naczyń wieńcowych. Celem pracy było zbadanie rozmieszczenia wysp krwiotwórczych w sercu płodowym oraz scharakteryzowanie struktury i fenotypów składników komórkowych wysp krwiotwórczych myszy w okresie poprzedzającym rozpoczęcie krążenia krwi w systemie wieńcowym, tj. do stadium 13,5 dpc. Badania prowadzono za pomocą metod histologicznych, ultrastrukturalnych oraz immunohistochemicznych z wykorzystaniem swoistych przeciwciał. Wyspy krwiotwórcze lokalizują się dystalnie od ognisk pierwotnej angiogenezy wieńcowej, która rozpoczyna się intensywną tubulogenezą na biegunie żylnym serca w bruzdzie przedsionkowo-komorowej powierzchni przeponowej serca i maleje w kierunku koniuszków serca. Wyspy krwiotwórcze znajdują się w bruzdach międzykomorowych: przystożkowej oraz podzatkowej u myszy lub w ich pobliżu oraz w rejonie obu koniuszków serca. W bruzdach międzykomorowych serc 12–13 dpc wyspy występują zwykle po kilka w odległościach 30–40 μm od siebie. W sercach wczesnych stadiów rozwoju (11 dpc) mogą pojawiać się w mniejszej liczbie. Rozmieszczenie wysp krwiotwórczych serca jest skorelowane z grubością ściany miokardium: tj. wyspy pojawiają się w miejscach najdalszych od strumienia krwi omywającego wsierdzie. Wnętrze wysp jest wypełnione krwinkami czerwonymi, stanowiącymi przewagę liczebną, oraz limfocytami i płytkami krwi, które pojawiają się w wyspach w mniejszej liczbie. Krwinki czerwone znajdują się na różnych etapach rozwoju i dojrzałości, najczęściej są to komórki linii wczesnego erytroblasta wykazującego ekspresję antygeny Terr119, a niektóre z nich wykazują też ekspresję antygeny CD34. Nie znaleziono komórek o fenotypie Lyve+ w wyspach krwiotwórczych serca. Niektóre wyspy krwiotwórcze są podzielone na mniejsze obszary komórkami (śródbłonka? fibroblastami?) lub pasmami tkanki łącznej; w mniejszych obszarach znajdują się krwinki czerwone. Krwinki mogą przemieszczać się poza ścianę otaczającego je śródbłonka naczyniowego. Przemawiają za tym obrazy morfologiczne znacznie odkształconych krwinek z długimi, krętymi wypustkami tkwiącymi w ścianie wyspy pomiędzy komórkami śródbłonka. Krwinki znajdowane są także luźno rozmieszczone w miokardium lub pod nasierdziem, bez związku ze ścianą naczyniową. W miarę rozwoju naczyń wieńcowych wyspy krwiotwórcze wydłużają się w podobne do tubul struktury naczyniowe wypełnione krwinkami, ale znaczna ich część nie wykazuje drożności z naczyniami krążenia wieńcowego. Dopiero po nawiązaniu połączenia z naczyńmi naczyniowych z aortą i zatoką wieńcową tubule naczyniowe zlewają się w jeden system naczyń wieńcowych. Podsumowując, analiza morfologii wysp krwiotwórczych serca w poszczególnych stadiach ich dojrzewania jest wstępnym eta-

pem prowadzącym do bliższego poznania mechanizmów angio- i waskulogenezy naczyń wieńcowych serca.

1742

Ocena porównawcza właściwości protekcyjnych różnych rodzajów kardioplegii krystalicznej z wykorzystaniem hodowli kardiomiocytów *in vitro*

Rafał Nowicki¹, Jolanta Saczko², Katarzyna Biezuńska-Kusiak², Julita Kulbacka², Agnieszka Chwilkowska², Anna Choromańska², Nina Skołucka², Andrzej Dumański¹, Wojciech Kustrzycki¹

¹Katedra i Klinika Chirurgii Serca, Akademia Medyczna, Wrocław

²Katedra i Zakład Biochemii Lekarskiej, Akademia Medyczna, Wrocław

Wstęp: Powszechnie uznaną metodą ochrony serca przed skutkami niedokrwienia podczas zabiegu kardiochirurgicznego jest zastosowanie kardioplegii. Kardioplegia to płyn zawierający m.in. jony potasu; podawany do naczyń wieńcowych (po zatrzymaniu krążenia wieńcowego) w postaci roztworu wodnego (kardioplegia krystaliczna) lub po zmieszaniu z krwią pacjenta (kardioplegia krwista). Pomimo licznych badań doświadczalnych na zwierzętach oraz obserwacji klinicznych porównujących różne rodzaje, sposoby i warunki podawania kardioplegii nie wypracowano dotychczas uniwersalnego sposobu protekcji serca podczas operacji. Rodzaj stosowanej kardioplegii zależy obecnie od doświadczeń poszczególnych ośrodków lub konkretnego kardiochirurga. Niewielu autorów wykorzystuje hodowlę komórkową do badań nad porównaniem, udoskonaleniem lub wzbogaceniem preparatów kardioplegicznych.

Cel: Celem pracy było wykorzystanie prostego modelu badawczego, jakim są ludzkie kardiomiocyty hodowane *in vitro* (HCM), do porównania właściwości biochemicznych i kardioprotekcyjnych stosowanych powszechnie preparatów kardioplegii krystalicznej: handlowych (Plegisol, Custodiol), jak i przygotowanego laboratoryjnie na bazie formuły z St. Thomas' Hospital w Londynie (STH2).

Metody: Ludzkie kardiomiocyty (HCM) inkubowano w temp. 37°C w płynie hodowlanym Myocyte Growth Medium z dodatkiem 10% surowicy płodowej i antybiotyków w atmosferze 5% CO₂. Następnie komórki przenoszono do roztworów kardioplegii krystalicznej (Custodiol, Plegisol, ST2) i inkubowano w temperaturze pokojowej 0,5; 1; 2 i 4 godziny. Stan metaboliczny mitochondriów kardiomiocytów oznaczono na podstawie pomiaru aktywności dehydrogenazy mitochondrialnej (testem MTT). Do oceny stresu oksydacyjnego wykorzystano badanie stężenia dialdehydu malonowego (MDA) oraz oznaczenie ekspresji MnSOD metodą immunocytochemiczną (ABC). Badania wykonano po 0,5; 1; 2 i 4 godzinach inkubacji.

Wyniki: Wszystkie rodzaje kardioplegii nie wpłynęły znacząco na poziom dehydrogenazy mitochondrialnej (IC > 50).

Jednak Custodiol wydaje się optymalnym roztworem, gdyż w czasie inkubacji od 0,5 do 2 h stan metaboliczny mitochondriów utrzymywał się na poziomie wyjściowym (ok. 100%). Po 4 h inkubacji stan ten był zbliżony we wszystkich próbkach, niezależnie od rodzaju kardioplegii, w której inkubowano kardiomiocyty. Poziom MDA był podwyższony w stosunku do próby kontrolnej. W czasie od 0,5 h do 2 h inkubacji we wszystkich grupach (najbardziej w przypadku STH2, najmniej w przypadku Custodiolu) peroksydacja lipidów stopniowo malała, aby po 4 h inkubacji ponownie wzrosnąć. Tendencja spadkowa po 4 h inkubacji utrzymała się jedynie w przypadku Custodiolu. Ekspresja enzymu antyoksydacyjnego — MnSOD była najwyższa po 0,5 h inkubacji, po czym stopniowo spadała we wszystkich roztworach bez wyraźnych różnic.

Wnioski: Z przeprowadzonego testu MTT wynika, że wszystkie rodzaje kardioplegii nie zaburzają w istotny sposób funkcji mitochondrium, jednak najbardziej bezpiecznym roztworem wydaje się Custodiol. Do podobnego wniosku można dojść po analizie stężenia MDA, które po 0,5 h i 4 h inkubacji jest najniższe w przypadku Custodiolu. Nie zaobserwowano istotnych różnic w obu roztworach kardioplegicznych opartych na formule St. Thomas' Hospital, niezależnie, czy był to gotowy preparat handlowy (Plegisol), czy też robiony w warunkach laboratoryjnych roztwór. Biorąc pod uwagę niskie koszty tego ostatniego, wynik badania może mieć istotne przesłanki ekonomiczne.

1743

Ekspresja mRNA receptorów V1a wazopresyny w sercu i nerkach u szczurów Sprague Dawley z zawałem mięśnia sercowego i chronicznie stresowanych

Elwira Milik, Ewa Szczepańska-Sadowska, Agnieszka Cudnoch-Jędrzejewska

Katedra i Zakład Fizjologii Doświadczalnej i Klinicznej, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa

Ekspresja mRNA receptorów V1a wazopresyny w sercu i nerkach u szczurów Sprague Dawley z zawałem mięśnia sercowego i chronicznie stresowanych. Zarówno zawał mięśnia sercowego, jak i chroniczny stres prowadzą do wzrostu aktywności układu wazopresynergicznego i zwiększonego wydzielania wazopresyny. Wazopresyna reguluje czynność układu sercowo-naczyniowego i gospodarkę wodno-elektrolitową, a efektywność jej działania zależy od poziomu receptorów w sercu i w nerkach. Celem pracy było wyjaśnienie, czy zawał mięśnia sercowego i chroniczny stres wywołują zmiany ekspresji mRNA receptorów V1a wazopresyny w prawej i lewej komorze serca oraz w korze i rdzeniu nerek. Badania wykonano na szczurach Sprague Dawley. W 10. tygodniu życia szczury były poddane operacji podwiązania lewej tętnicy wieńcowej w celu wywołania zawału mięśnia sercowego lub operacji pozorowanej we-

dług metody opisanej przez Seyle i wsp. (1960) i zmodyfikowanej przez Dobrucha i wsp. (2005). Część zwierząt z zawałem i część z operacją pozorowaną została poddana chronicznemu stresowaniu według procedury Grippo i wsp. (2002) zmodyfikowanej przez Cudnoch-Jędrzejewską i wsp. (2010). Pozostałe zwierzęta stanowiły grupę kontrolną w stosunku do chronicznie stresowanych. Ekspresja mRNA receptorów V1a była dobrze wyrażona we wszystkich badanych fragmentach narządów. Nie stwierdzono istotnych różnic w ekspresji V1aR mRNA u zwierząt z zawałem i bez zawału ani w sercu, ani w nerkach. U zwierząt chronicznie stresowanych i chronicznie stresowanych z zawałem ekspresja V1a w rdzeniu i w korze nerek była istotnie wyższa niż u zwierząt kontrolnych. Badania wskazują, że chroniczny stres wywołuje istotny wzrost ekspresji mRNA receptorów V1a wazopresyny w nerkach, co może przyczynić się do redukcji przepływu nerkowego krwi w nerkach podczas stresu.

Dobruch J, Cudnoch-Jędrzejewska A, Szczepańska-Sadowska E. Enhanced involvement of brain vasopressin V1 receptors in cardiovascular responses to stress in rats with myocardial infarction. *Stress*, 2005; 8: 273–284; Cudnoch-Jędrzejewska A, Szczepańska-Sadowska E, Dobruch J, Gomółka R, Puchalska L. Brain vasopressin V(1) receptors contribute to enhanced cardiovascular responses to acute stress in chronically stressed rats and rats with myocardial infarction. *Am J Physiol*, 2010; 298: R672–R680.

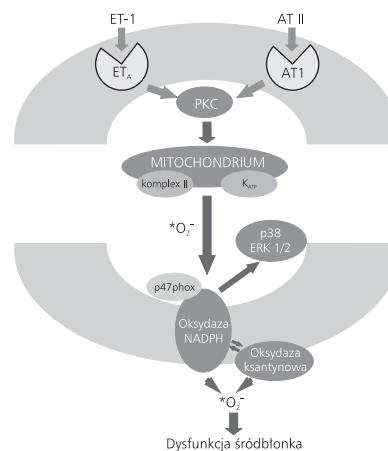
1744

Komórkowy mechanizm zwiększonej naczyniowej produkcji O₂⁻ pod wpływem angiotensyny i endoteliny

Emilia Klemenska, Anna Konior, Andrzej Beręsewicz

Zakład Fizjologii Klinicznej, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa

Centralnym elementem procesu miażdżycowego i destabilizacji już uformowanych blaszek miażdżycowych są: (i) naczyniowa nadprodukcja anionorodnika nadtlenkowego (O₂⁻) i stres oksydacyjny; (ii) dysfunkcja śródbłonna oraz (iii) zmiana fenotypu śródbłonna na prozapalny i prokrzepliwy. Czynniki zwiększającymi naczyniową produkcję O₂⁻ są czynniki ryzyka choroby sercowo-naczyniowej, działające głównie poprzez wzrost produkcji angiotensyny (AT-II) i/lub endoteliny (ET-1) i stymulację przez te hormony naczyniowej produkcji O₂⁻. Rezultaty obecnej pracy sugerują, że komórkowy mechanizm prooksydacyjnego działania AT-II i ET-1 jest podobny i że składa się na niego następująca sekwencja wydarzeń (ryc. 1): stymulacja przez hormony receptorów błonowych, stymulacja kinazy białkowej C (PKC), „aktywacja” mitochondriów i mitochondrialnej produkcji ROS, aktywacja naczyniowej oksydazy NADPH (NOX), stymulacja przez ten enzym: wewnątrzkomórkowo — MAP-kinaz i zewnątrzkomórkowo — aktywności oksydazy ksantynowej (XO) i wewnątrznaczyniowej produkcji



Rycina 1. [1744]

O₂⁻ przez NOX i XO. Eksperymenty zostały wykonane na izolowanych sercach świnki morskiej perfundowanych metodą Langendorfa; 10-minutowa perfuzja serc z 20 pM ET-1 lub 2 μM AT-II powodowała podobny przejściowy wzrost sercowej produkcji O₂⁻ (pomiar metodą z cytochromem c) oraz dysfunkcja śródbłonna (test z acetylocholiną mierzący wazodylatację zależną od NO). Towarzyszył temu wzrost aktywności enzymatycznej NOX i XO w homogenatach serc oraz zwiększona fosforylacja p47phox (białkowy aktywator NOXNOX) oraz MAP-kinaz (p38 i ERK1/2). Zmianom tym zapobiegały: (i) blokada receptorów AT-1 i ET-A, (ii) chelerytryna — bloker PKC; (iii) TTFa i kwas 5-hydroksydekanowy — blokery mitochondrialnych kompleksu II i kanałów potasowych ATP-zależnych; (iv) tempol — wymiatacz rodników penetrujący do komórek oraz (v) apocynina — inhibitor fosforylacji p47phox i tym samym inhibitor NOX. PMA, aktywator PKC, miał takie same efekty działania jak AT-II i ET-1 i wszystkie wymienione powyżej inhibitory zapobiegały efektom PMA, co lokuje PKC ponad mitochondriami (ryc. 1). Interwencje, o których wiadomo, że zwiększają mitochondrialną produkcję O₂⁻, w tym: (i) diazoksyd (aktywator mitochondrialnych kanałów potasowych ATP-zależnych); (ii) 3-NPA (inhibitor mitochondrialnej dehydrogenazy bursztynianowej) oraz benomyl (inhibitor mitochondrialnej dehydrogenazy alkoholowej), wszystkie miały takie same efekty działania jak AT-II i ET-1 i wszystkie wymienione powyżej inhibitory (z wyjątkiem chelerytryny) zapobiegały ich efektom, co lokuje mitochondria pomiędzy PKC i NOX (ryc. 1). Dodanie do płynu perfuzyjnego beta-NADH (substrat NOX) powodowało wzrost sercowej produkcji O₂⁻, aktywację NOX i XO oraz zwiększoną fosforylację p38 i ERK1/2. Efektem tym zapobiegała apocynina, co lokuje p38 i ERK1/2 oraz XO poniżej NOX. Poznanie mechanizmu naczyniowego stresu oksydacyjnego może być pomocne przy opracowywaniu strategii leczniczych użytecznych w prewencji choroby sercowo-naczyniowej.

1745

Ośrodkowa infuzja oksytocyny obniża reakcję presyjną w odpowiedzi na ostry bodziec stresowy w nadciśnieniu tętniczym

Agnieszka Wsół, Stanisław Kowalewski, Liana Puchalska, Ewa Szczepańska-Sadowska

Katedra i Zakład Fizjologii Doświadczalnej i Klinicznej, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa

Wstęp: Liczne badania wskazują na istotny udział oksytocyny (OXY) w regulacji wydzielania ośrodkowych neuropeptydów w odpowiedzi na stres oraz regulacji ciśnienia tętniczego. Dotychczas przeprowadzone w naszym ośrodku badania wykazały, że OXY reguluje odpowiedź sercowo-naczyniową na ostry bodziec stresowy w pozawałowej niewydolności serca.

Cel: Celem pracy było wyjaśnienie roli mózgowego układu oksytocynergicznego u zwierząt z nadciśnieniem tętniczym (SHR) w warunkach podstawowych i w warunkach ostrego stresu.

Metody: Badania przeprowadzono na zwierzętach czuwających w grupie 10–12-tygodniowych samców z nadciśnieniem tętniczym SHR (n = 28) i ich macierzystym szczepie normotensyjnym (WKY; n = 25). W obu grupach na tydzień przed planowanym doświadczeniem implantowano kaniulę do komory bocznej mózgu (LV), a na dzień przed doświadczeniem wprowadzano cewnik do tętnicy udowej. Pomiarów obejmujące monitorowanie ciśnienia tętniczego (MABP) oraz częstości skurczów serca (HR) wykonywano za pomocą aparatu BIOPAC MP100 (Biopac Systems, Inc.). W trakcie doświadczenia podawano 0,9% NaCl, OXY lub antagonistę OXY (OXYANT) w infuzji LV. Po 40 min infuzji zwierzęta poddawane były działaniu ostrego bodźca stresującego pod postacią *air-jet stress*.

Wyniki: Nie stwierdzono istotnych zmian MABP i HR podczas dokomorowej infuzji OXY, OXYANT lub 0,9% NaCl w spoczynku. Jednocześnie wykazano, że odpowiedź układu krążenia na ostry stres jest istotnie wyższa u szczurów SHR niż w odpowiadających im grupach kontrolnych (p < 0,05). Infuzja OXY istotnie redukowała odpowiedź presyjną na stres w grupie SHR (p < 0,05), natomiast zwiększyła w grupie zwierząt kontrolnych (p < 0,05). Podanie OXYANT zwiększyło odpowiedź presyjną jedynie w grupie kontrolnej WKY (p < 0,05).

Wnioski: Wyniki badania sugerują nieistotny udział układu oksytocynergicznego w regulacji parametrów hemodynamicznych w warunkach podstawowych, upośledzoną odpowiedź układu krążenia na stres przez endogenny układ oksytocynergiczny w nadciśnieniu tętniczym SHR. Wzrost ciśnienia w warunkach normotensji w trakcie infuzji OXY może wynikać z pobudzenia innych receptorów niż oksytocynergicznymi (np. receptorów dla wazopresyny V1a), co wymaga kontynuacji badania.

1746

Wpływ atorwastatyny na gojenie się uszkodzeń śródbłonna naczyniowego *in vitro*

Katarzyna Korybalska, Edyta Kawka, Janusz Witowski

Katedra i Zakład Patofizjologii, Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego, Poznań

Wstęp: Przeszkórne interwencje wieńcowe (PCI) mogą prowadzić do uszkodzeń śródbłonna naczyniowego. Ponieważ naruszenie integralności śródbłonna sprzyja restenozie, zaburzenia jego regeneracji mogą wpływać na odległe wyniki PCI. Pomimo ochronnego wpływu statyn na funkcje naczyń, dane literaturowe z ostatnich lat nie są jednoznaczne co do oceny wpływu tych leków na proces gojenia się śródbłonna. W związku z tym celem niniejszej pracy była ocena wpływu atorwastatyny na proliferację i regenerację śródbłonna po uszkodzeniach imitujących w warunkach *in vitro* urazy po PCI.

Metody: Badania przeprowadzono na komórkach śródbłonna pochodzących z żyły pępowinowej (HUVEC). Komórki inkubowano w standardowym medium hodowlanym (M199) z wymaganymi suplementami i w obecności atorwastatyny (AT) w stężeniach, w jakich występuje ona we krwi pacjentów poddanych typowemu leczeniu (0,01–0,1 μ M). Proliferację HUVEC oceniano za pomocą testu MTT i inkorporacji bromodezoksyurydyny. Natomiast regenerację po uszkodzeniu przez zadrażnienie monitorowano za pomocą mikroskopii *time-lapse* i analizy morfometrycznej. Wyniki przedstawiono jako średnie \pm SD. Oceniono również, jakie procesy (migracja, proliferacja) decydują o procesie regeneracji.

Wyniki: Stwierdzono, że eksperymentalne rany śródbłonna goją się w ciągu 12 godz. głównie poprzez migrację komórek z brzegów rany, a jedynie w małym stopniu przez ich proliferację (11 \pm 3% komórek proliferujących). Atorwastatyna w badanych stężeniach nie zmieniała istotnie ani kinetyki regeneracji, ani proliferacji HUVEC. Wyniki przedstawiono w tabeli.

Wnioski: W warunkach *in vitro* atorwastatyna w stężeniach istotnych klinicznie nie upośledza proliferacji i nie zaburza gojenia się uszkodzeń komórek śródbłonna naczyniowego.

1747

Metabolizm angiotensynogenu w aorcie szczura: powstawanie proangiotensyny-12

Aneta Stachowicz, Beata Bujak-Giżycka, Maciej Suski, Rafał Olszanecki, Ryszard Korbut

Katedra Farmakologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński, Kraków

Tabela. Wpływ atorwastatyny (AT) na proliferację i regenerację śródbłonna naczyniowego [1746]

	Kontrola	AT 0,01 μM	AT 0,1 μM
Proliferacja (% kontroli, n = 3)	100	102 \pm 6	99 \pm 8
Regeneracja (% zamknięcia rany, n = 5):			
po 2 godz.	15 \pm 9	18 \pm 12	20 \pm 16
po 4 godz.	34 \pm 11	33 \pm 12	35 \pm 17
po 8 godz.	79 \pm 22	67 \pm 17	76 \pm 21
po 12 godz.	97 \pm 5	92 \pm 11	92 \pm 8

Układ renina–angiotensyna (RAS) pełni bardzo ważną rolę w regulacji homeostazy ściany naczynia. Proangiotensyna-12 (proAng-12) jest nowo odkrytym metabolitem angiotensynogenu, który może służyć jako alternatywny substrat do lokalnej produkcji angiotensyn i tym samym przełamywać tradycyjną, zależną od reniny konwersję angiotensynogenu do angiotensyny I. W niniejszej pracy przy zastosowaniu metody LC-MS zidentyfikowano proAng-12 jako główny produkt metabolizmu angiotensynogenu *ex vivo* w aorcie szczura. Wobec tego wydaje się, że proAng-12 jest nie tylko przeważającym metabolitem angiotensynogenu, ale także może służyć jako substrat do powstawania Ang I i Ang II. Funkcjonalne znaczenie uzyskanych wyników wymaga dalszych badań.

1749

Mechanizmy przeciwmiażdżycowego działania agmatyny — badania na modelu eksperymentalnym miażdżycy: myszy z wyłączonym genem dla apolipoproteiny E (*apoE-knockout mice*)

Anna Niepsuj, Rafał Olszanecki, Ryszard Korbut

Katedra Farmakologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński, Kraków

Agmatyna — występujący w organizmie produkt dekarboksylacji argininy — wykazuje wiele aktywności biologicznych. Unikatowa konstelacja działania przeciwwzpalnego, hamującego proliferację komórek mięśni gładkich, ochronnego wobec mitochondriów i antyapoptotycznego czyni z agmatyny substancję o potencjalnym działaniu przeciwmiażdżycowym. Celem pracy jest zbadanie wpływu egzogennej agmatyny na rozwój zmian miażdżycowych w mysim modelu tej choroby (myszy z wyłączonym genem dla apolipoproteiny E — *apoE-knockout mice*) oraz określenie jej najbardziej prawdopodobnego mechanizmu przeciwmiażdżycowego. Do eksperymentów użyto samców myszy apoE KO w wieku 8 tygodni. Badane były następujące grupy zwierząt: grupa kontrolna (karmiona standardową paszą laboratoryjną, n = 8) i grupa badana (agmatyna zmieszana „na zimno” z paszą, podawana w dawce 20 mg/kg mc./dobę przez 4 miesiące, n = 8). Zarówno w ocenie metodą „*en face*”, jak i metodą „*cross section*” agmatyna spowodowała

znamiennie (o 40%) zmniejszenie zmian miażdżycowych w aorcie myszy apoE KO. Barwienia immunohistochemiczne wykazały, że agmatyna działała stabilizująco na blaszki miażdżycowe — zmniejszała w nich zawartość makrofagów, a także zwiększała liczbę komórek mięśni gładkich. Co ciekawe, agmatyna okazała się silnie zwiększać stężenie lipoprotein o wysokiej gęstości (HDL), nie wpływając jednocześnie na stężenie lipoprotein o niskiej gęstości (LDL) i triglicerydów. Obecnie prowadzone oznaczenia i eksperymenty mają na celu wyjaśnienie molekularnych mechanizmów odpowiedzialnych za przeciwmiażdżycowe działanie agmatyny. Wydaje się, że za przeciwmiażdżycowe działanie agmatyny w modelu myszy apoE KO odpowiada jej wpływ na wątrobę, w szczególności na wątrobowy, mitochondrialny metabolizm lipidów i tworzenie się HDL. Wpływ agmatyny na ekspresję czynników zaangażowanych w regulację funkcji mitochondriów i metabolizm lipidów badany jest technikami biologii molekularnej i proteomiki. Jest to pierwsze doniesienie, w którym opisano hamujący wpływ agmatyny na rozwój miażdżycy w eksperymentalnym modelu zwierzęcym tej choroby.

1750

Effects of morin-5'-sulfonic acid sodium salt (NaMSA) on cyclophosphamide-induced changes in ADMA plasma levels and DDAH activity in rat liver and kidney

Anna Merwid-Ląd¹, Małgorzata Trocha¹, Ewa Chlebda¹, Tomasz Sozański¹, Jan Magdalan¹, Maria Kopacz², Anna Kuźniar², Małgorzata Pieńiewska¹, Lidia Fereniec-Gołębiewska¹, Adam Szela¹¹Department of Pharmacology, Wrocław Medical University, Wrocław²Department of Inorganic and Analytical Chemistry, Rzeszów University of Technology, Rzeszów

Background: Elevated level of asymmetric dimethylarginine (ADMA) due to e.g. decreased activity of the main enzyme responsible for ADMA metabolism — dimethylarginine dimethylaminohydrolase (DDAH) is very well known factor increasing cardiovascular risk. Such changes are observed e.g. in case of increased oxidative stress. Cyclophosphamide (CPX) is an anticancer drug with strong immunosuppressive properties and

is also known prooxidative factor. Cardiotoxicity is not the most common adverse effect of CPX, but cardiomyopathy, heart failure or cardiac arrhythmias are also observed during treatment. Flavonoids are constituents of plants and vegetables with strong antioxidant properties and may prevent from some adverse effects induced by anticancer drugs. Naturally-occurring morin is poorly soluble in water, therefore in our previous works its water-soluble derivative — morin-5'-sulfonic acid sodium salt (NaMSA) was tested as antidote in acute and subacute heavy metals intoxications. Till now little is known about the influence of CPX or NaMSA on plasma ADMA level and/or DDAH activity.

Aim: The aim of the present study was to evaluate effects of NaMSA on cyclophosphamide-induced changes in plasma ADMA level and DDAH activity in rat liver and kidney.

Methods: The study was performed on Wistar rats of both sexes (203.9 g \pm 18.6 g) divided into three experimental groups (N = 12): group C — receiving 0.9% saline solution; group CX — receiving CPX (15 mg/kg) and group M-CX — receiving CPX (15 mg/kg) and NaMSA (100 mg/kg). All studied substances were given intragastrically for 10 consecutive days. On the 11th day of the experiment blood sample was collected for ADMA measurements. Part of the liver and one kidney were homogenised and in the obtained supernatants DDAH activity was evaluated. ADMA concentration was measured using HPLC method and expressed as μ M. DDAH activity was measured spectrophotometrically and presented as μ M L-citrulline formation/g protein/min at 37°C.

Results: ADMA level was significantly lower in group CX comparing to the control group (group Cx vs. C, $p < 0.001$). This effect of CPX was not reversed by addition of NaMSA (group M-CX vs. C, $p < 0.001$, and M-CX vs. CX, $p = \text{NS}$, non significant). No significant differences were observed in DDAH activity in liver. However, CPX induced increase in DDAH activity and the difference to control group was on the significance border (group CX vs. C, $p = 0.05$). Addition of NaMSA to CPX tended to reverse those changes. No significant changes between groups were observed in DDAH activity in kidneys ($p = \text{NS}$ in all comparisons).

Conclusions: CPX is considered as strong prooxidative agent; therefore we have expected rather increased plasma ADMA level with decreased DDAH activity. Our results are quite opposite. In the same model of CPX administration we have demonstrated that 10 days treatment with CPX at 15 mg/kg dose caused significant decrease, not increase in malondialdehyde level (indicator of lipid peroxidation), but with the decrease in superoxide dismutase activity and glutathione level (manuscript under review). This requires further detailed studies on the impact of CPX and newer flavonoids derivatives on ADMA level and DDAH activity in the context of cardiovascular risk.

1751

Związek pomiędzy markerem apoptozy (sTRAIL) a ryzykiem sercowo-naczyniowym wyrażonym stężeniem NT-proBNP i wskaźników stanu zapalnego u chorych hemodializowanych

Danuta Fedak¹, Marek Kuźniewski², Paulina Dumnicka³, Maria Kapusta¹, Beata Kuśnierz-Cabala¹, Bogdan Solnica¹, Władysław Sułowicz²

¹Zakład Diagnostyki Katedry Biochemii Klinicznej, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński, Kraków

²Katedra i Klinika Nefrologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński, Kraków

³Zakład Diagnostyki Medycznej, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński, Kraków

Wstęp: Przewlekła choroba nerek (PChN) charakteryzuje się przyspieszonym rozwojem miażdżycy i przewlekłym stanem zapalnym. Stężenie NT-proBNP u chorych z PChN poddawanych przewlekłej dializoterapii jest znamienne podwyższone w porównaniu z pacjentami niedializowanymi oraz populacją z prawidłową funkcją nerek i koreluje z dysfunkcją rozkurczową i przerostem lewej komory serca, przewlekłym uszkodzeniem mięśnia sercowego, wzrostem ryzyka zdarzeń sercowo-naczyniowych, a także jest wskaźnikiem występowania oraz oceny ciężkości przebiegu choroby niedokrwiennej serca zwiększając ryzyko śmiertelności pacjentów. Zarówno hsCRP, jak i IL-6 są uznanymi czynnikami ryzyka śmiertelności sercowo-naczyniowej chorych z PChN. Dodatkowo wykazano, że IL-8 jest również patogennym mediatorem w procesie miażdżycowym i bywa uznawana za najsilniejszy czynnik predykcyjny śmiertelności ogólnej i sercowo-naczyniowej, po uwzględnieniu wieku i czasu dializowania u chorych w schyłkowym stadium PChN. TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand) jest cytokiną należącą do rodziny TNF, produkowaną w licznych komórkach i tkankach, która może być odpowiedzialna za indukcję lub hamowanie apoptozy. Dostępne dane wskazują na rolę TRAIL w modulacji stanu zapalnego oraz rozwoju miażdżycy.

Cel: Celem przeprowadzonych badań była ocena zależności pomiędzy rozpuszczalnym TRAIL (sTRAIL) a NT-proBNP i wybranymi wskaźnikami stanu zapalnego u chorych z PChN leczonych powtarzanymi hemodializami.

Metody: Badaniami objęto 76 chorych (36 kobiet i 40 mężczyzn) w wieku 60 ± 12 lat leczonych hemodializami przez okres $74,8 \pm 58,0$ miesięcy. sTRAIL, IL-6 i IL-8 oznaczano metodą ELISA, hsCRP za pomocą metody immunonefelometrycznej, a NT-proBNP metodą elektrochemiluminescencyjną.

Wyniki: Przeanalizowano związki pomiędzy badanymi parametrami i wykazano istnienie ujemnej zależności pomiędzy stężeniem sTRAIL a stężeniem NT-pro-BNP ($r = -0,246$; $p = 0,0378$), IL-6 ($r = -0,275$; $p = 0,0483$), IL-8 ($r = -0,305$; $p = 0,0152$). Nie stwierdzono zależności z hsCRP, natomiast

wykazano dodatnią zależność z albuminą ($r = 0,451$; $p = 0,0000$).

Wnioski: 1. Pomimo braku istotnych zależności pomiędzy sTRAIL a hsCRP stwierdzona ujemna korelacja pomiędzy sTRAIL a IL-6 i IL-8 pozwala przypuszczać, że sTRAIL może być ujemnym wskaźnikiem stanu zapalnego. 2. Stwierdzona korelacja pomiędzy NT-proBNP a sTRAIL może być potwierdzeniem złożonego związku pomiędzy stanem przewodnienia, ryzykiem sercowo-naczyniowym a mechanizmami regulującymi procesy apoptozy. 3. Dodatnia korelacja pomiędzy stężeniami sTRAIL a albuminą będącą ujemnym białkiem ostrej fazy może wskazywać na protekcyjną rolę sTRAIL w ograniczeniu zapalenia u chorych hemodializowanych i hamowaniu postępu miażdżycy, a w konsekwencji zmniejszeniu powikłań sercowo-naczyniowych i śmiertelności w tej grupie chorych.

1752

Rola kwasów tłuszczowych w różnicowaniu się komórek SVF

Anna Polus¹, Beata Kieć-Wilk¹, Urszula Czech¹, Urszula Rażny¹, Tatiana Konovalova², Alexander Sigruener², Gerhard Liebisch², Gerd Schmitz², Aldona Dembińska-Kieć¹

¹Katedra i Zakład Biochemii Klinicznej, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński, Kraków

²Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, University of Regensburg, Regensburg

Kwasy tłuszczowe stanowią integralną część lipidów błon komórkowych decydującą o ich płynności, o funkcji białek (receptorów, kanałów jonowych), jak i mobilności organelli komórkowych. Dostarczane z pożywieniem i syntetyzowane endogennie kwasy tłuszczowe (FFA) i ich metabolity są nie tylko substratem energetycznym, ale pełnią rolę regulatorów procesów metabolicznych (indukcja enzymów: katabolizm-termogeneza) i ekspresji genów związanych z różnicowaniem się komórek. Działają tak jako ligandy aktywujące czynniki transkrypcyjne lub bezpośrednio przyłączają się do miejsc regulatorowych w sekwencji promotorów genów (FARE, *fatty acid response element*). FFA mogą również regulować procesy potranskrypcyjne, wpływając na stabilność mRNA białek. Celem badań było wykazanie wpływu kwasów tłuszczowych na różnicowanie i odróżnicowanie komórek progenitorowych izolowanych z podskórnej tkanki tłuszczowej (tzw. SVF, *stromal vascular fraction*). Korelowano zmianę profilu lipidowego komórek (lipidomika) z ekspresją genów (transkryptomika) na różnych etapach różnicowania i odróżnicowania się komórek SVF. Komórki progenitorowe SVF izolowane z podskórnej tkanki tłuszczowej (metoda Haunera) były różnicowane *in vitro* do adipocytów [48 godzin — MDI, deksametazon (0,25 μ M), IBMX (0,5 mM), insulina (66 nM)]. Na ostatnie 24 godziny dodawano wybrane FFA (PA, OA, AA lub EPA w nietoksycznym stężeniu 30 μ M).

W celu pełnego zróżnicowania komórki hodowano przez kolejne 15 dni w medium adipogennym [DMEM, transferyna (10 mg/ml), insulina (66 nM), hydrokortyzon (100 nM), T3 (1 nM)]. Po tym okresie odróżnicowywano komórki przez kolejne 15 dni przez hodowlę w medium (DMEM) z dodatkiem FCS (10%). Oznaczenia profilu lipidowego komórek SVF na poszczególnych etapach różnicowania (48 godzin; 15 i 30 dni) wykonano metodą spektrometrii mas (*liquid chromatography/mass spectrometry* (LC/MS), *gas chromatography/mass spectrometry* (GC/MS), *ion mobility spectrometry* (IMS/MS), w ramach projektu UE Lipidomic-Net). Analizowano średnią procentową zawartość poszczególnych klas lipidów w komórkach oraz zawartość kwasów tłuszczowych o różnej długości węglowych łańcuchów w poszczególnych frakcjach lipidów. Analizowano równocześnie zmiany w ekspresji genów na różnych etapach różnicowania się komórek przy użyciu mikromacierzy oligonukleotydowych (Single Colored Agilent Array 23043). Uzyskane wyniki korelowano programem ExPlain 3,0 (we współpracy z międzynarodową firmą biotechnologiczną BIOBASE). Korelacja zależności pomiędzy ekspresją poszczególnych genów a klasami lipidów oraz z długością łańcuchów węglowych kwasów tłuszczowych budujących te lipidy w analizowanych procesach wykazała, że zawartość kwasu tłuszczowego o 40 węglowym łańcuchu i 4 wiązaniach nienasyconych w fosfatydyloserynie była związana z ekspresją genów związanych ze stresem siateczki endoplazmatycznej, co wydaje się mieć istotny związek z tworzeniem kropli lipidowych.

Praca finansowana ze środków FP7 EU LIPIDOMICNET projekt nr 202272.

1753

Mitochondria-related activity of different free fatty acids in endothelial cells exposed to stress

Joanna Góralska, Anna Polus, Agnieszka Śliwa, Anna Knapp, Anna Gruca, Urszula Czech, Aldona Dembińska-Kieć

Department of Clinical Biochemistry, Jagiellonian University Medical College, Cracow

Background: Exposition of endothelium to free fatty acids may exert different effects depending on saturation and length of chain, including induction of apoptosis and lipotoxicity, as well as prosurvival effects against cell death. Omega-3 fatty acids have been found to favorably modulate impaired endothelial function, as determined by *in vitro* assessment of vasodilation mechanisms and vasoconstrictive responses, potentially due to enhanced nitric oxide formation and increased vascular smooth muscle relaxation but the mechanism remains elusive.

Aim: The aim of the study was to investigate the mitochondria-related effect of FFAs in endothelium model cells (HUVEC) exposed to metabolic stressor.

Methods: Endothelial cells (HUVEC, human umbilical vein endothelial cells) were preincubated with FFAs: palmitic acid (PA), oleic acid (OA), arachidonic acid (AA), eicosapentaenoic acid (EPA) at 30 μ M for 24 h. For the last 4 hours of incubation, HUVEC cells were exposed to TNF-alpha at 5 ng/ml as cellular stressor. Mitochondrial metabolic activity was monitored by measurements of the mitochondrial oxygen consumption rates (OROBOROS® Oxygraph-2k) and ATP level. Measurement of mitochondrial membrane potential (MMP) was performed by flow cytometry using JC-1 by and BD Bioimager 855 microscopy.

Results: HUVEC cells were affected by TNF-alpha which decreased the MMP, though the other mitochondrial functions studied were changed not significantly. The mitochondrial respiration, mitochondrial membrane potential and ATP generation was significantly increased by pretreatment of endothelial cells with EPA. This study has demonstrated that EPA may improve mitochondrial function in endothelium and exert protective effect in the stressed cells.

Supported by: CMUJ K/ZBW/000577, Polish-Norwegian grant PNR-104-AI-1/07, Lipidomicnet (Grant 202272).

1754

Asymetria zmienności rytmu serca

Monika Petelczyc, Jan J. Żebrowski

Pracownia Fizyki Układu Krążenia, Wydział Fizyki, Politechnika Warszawska, Warszawa

Nocne zapisy zmienności rytmu serca zostały poddane analizie wymagającej wyznaczenia momentów warunkowych. Są one znane jako współczynniki rozwinięcia Kramersa-Moyala i służą do opisu właściwości badanego procesu w obrazie fizyki procesów stochastycznych (procesów przypadkowych). Na szczególną uwagę zasługują dwa pierwsze momenty (czyli współczynniki dryfu oraz dyfuzji), gdyż mogą być wykorzystane do rekonstrukcji szeregów czasowych. Ich analiza umożliwiła przedstawienie zmienności rytmu serca jako procesu regulowanego przez dwa współistniejące mechanizmy przyspieszania oraz zwalniania rytmu. Właściwości otrzymanych współczynników dyfuzji pozwalają wprowadzić parametry charakteryzujące te mechanizmy. Nowe parametry zaproponowane w pracy są miarą zdolności do przyspieszania (skracania interwału RR) oraz zwalniania (wydłużania interwału RR) w kolejnych cyklach pracy serca. Ich interpretacja wynika z zaproponowanego uproszczonego modelu dynamiki zmienności rytmu serca, a także ze sposobu obliczania momentów warunkowych. Okazuje się, że zwalnianie rytmu jest łatwiejsze fizjologicznie i dominuje nad przyspieszaniem rytmu. Procesy zwalniania oraz przyspieszania rytmu serca nie są równorzędne i w tym sensie można wprowadzić pojęcie asymetrii zmienności rytmu serca. Posługując się modelami fizycznymi, można pokazać związek obserwowanej asymetrii z niemiarkowością od-

dechową rytmu serca, która jest odbiciem stanu aktywności obu gałęzi autonomicznego układu nerwowego. Opisane wyniki będą porównane z innymi metodami oceny asymetrii rytmu serca.

1755

Zmiany aktywności układu autonomicznego serca po stymulacji TENS

Agata Furgała, Joanna Szmigiel, Anna Machowska, Katarzyna Ciesielczyk, Piotr Thor

Katedra Patofizjologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński, Kraków

Wstęp: Przeszkórna elektryczna stymulacja nerwów (TENS) jest metodą neuromodulacji o wielu zastosowaniach. Mechanizm działania TENS polega na bezpośrednim wpływie na zmiany napięcia układu autonomicznego oraz na pobudzeniu wydzielania neurotransmiterów.

Cel: Celem pracy była ocena zmian aktywności układu autonomicznego w odpowiedzi na stymulację nerwów za pomocą TENS.

Metody: Do badania zakwalifikowano 30 ochotników (wiek $22,5 \pm 2$ lata, 11 mężczyzn, 19 kobiet). Wykluczono osoby z cukrzycą, otyłością, chorobami układu sercowo-naczyniowego, stosujące leki wpływające na aktywność układu autonomicznego. Podczas badania rejestrowano aktywność autonomicznego układu nerwowego poprzez ocenę parametrów: zmienności rytmu serca (HRV) i zmienności ciśnienia tętniczego (BPV), aktywności baroreceptorów (BRS) oraz hemodynamicznych serca za pomocą aparatu Task Force Monitor 3040i (CNSystems, Austria) w warunkach podstawowych (20 min), w trakcie 15-minutowej stymulacji TENS (Sinus 5 stimulator – impuls – 0,1 ms, 10–20 mA) oraz po stymulacji (20 min). Dwukrotnie pobrano krew do oznaczenia stężenia noradrenaliny (przed i po stymulacji).

Wyniki: Po stymulacji TENS zmianie uległy wartości wskaźników hemodynamicznych serca: spadek CI ($3,2 \pm 0,65$ v. $2,97 \pm 0,52$; $p = 0,001$) i LVWI, natomiast wzrost TPR (1212 ± 275 v. 1341 ± 254 ; $p = 0,001$). Częstość rytmu serca nie uległa zmianie. W zakresie widma HRV zanotowano wzrost lnLF ($6,94 \pm 0,81$ v. $7,35 \pm 0,85$; $p = 0,0001$) oraz wzrost współczynnika LF/HF ($1,22 \pm 1,06$ v. $1,59 \pm 1,36$; $p = 0,004$). W zakresie widma BPV stwierdzono spadek wartości lnTP, lnLF i lnHF. Aktywność baroreceptorów BRS zmniejszyła się z $33,78 \pm 13,5$ ms/mm Hg do $31,32 \pm 13,5$ ms/mm Hg; $p = 0,049$. Aktywność osoczowa noradrenaliny wzrosła pod wpływem stymulacji z $342,57 \pm 153,40$ do 418 ± 210 pg/ml; $p = 0,03$.

Wnioski: Zmiany wartości wskaźników hemodynamicznych układu krążenia (TPR), wzrost wartości parametrów HRV (lnLF, LF/HF) oraz zmniejszenie aktywności baroreceptorów i wskaźników zmienności ciśnienia tętniczego, jak również wzrost stężenia noradrenaliny w osoczu jednoznacznie wskazują na pobudzenie komponenty współczulnej układu autonomicznego.

1756

Białko wiążące lipopolisacharyd w chorobie niedokrwiennej serca, związek z dynamiką objawów i rozległością procesu miażdżycowego tętnic wieńcowych

Tomasz Rechciński¹, Agnieszka Matusiak²,
Małgorzata Kurpesa¹, Wiesława Rudnicka²,
Jarosław D. Kasprzak¹, Magdalena Chmiela²

¹II Katedra i Klinika Kardiologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Łódź

²Katedra Immunologii i Biologii Infekcyjnej, Uniwersytet Łódzki, Łódź

Wstęp: Białko wiążące lipopolisacharyd (LBP) to „pierwszoliniowe” białko reagujące z bakteryjnym lipopolisacharydem, umożliwiające dalsze interakcje ze strukturami w docelowych komórkach. Sugeruje się, że jego obecność to wiarygodny marker pobudzenia wrodzonej odporności, jak również marker procesu aterosklerozy.

Cel: Celem tego badania była ocena, czy pacjenci (pts.) z różnym stopniem zaawansowania miażdżycy tętnic wieńcowych, a także ci w stabilnej i niestabilnej fazie choroby wieńcowej (CAD) różnią się między sobą i w porównaniu z osobami zdrowymi osoczowymi stężeniami LBP.

Metody: Badaniem objęto 140 pts. z CAD potwierdzoną w koronarografii i 60 zdrowych ochotników. Pacjenci z CAD zostali sklasyfikowani do 3 kategorii: stabilna angina CCS I i II (STAB) — 75 pts., troponino-dodatni ostry zespół wieńcowy (OZW) — 34 pts., choroba trójnaczyńowa z kwalifikacją do planowego zabiegu „by-passów” (CABG) — 31 pts. Pacjenci z grupy STAB to osoby po planowej angioplastyce z powodu stenozy $\geq 70\%$ w jednej lub dwóch tętnicach wieńcowych. Pacjenci w grupie STAB i CABG mieli negatywne wyniki testu na troponinę I. Żaden z uczestników nie miał ostrej infekcji podczas pobierania próbek krwi. Krew na badanie pobierano w ciągu 12 godzin po planowej koronarografii w grupie STAB i CABG lub w ciągu 12 godzin od początku spoczynkowego bólu zamostkowego w grupie OZW. Próbkę przechowywano w temperaturze -70°C do dnia, w którym jednocześnie wykonano oznaczenia ze wszystkich próbek. Do określenia osoczowych stężeń LBP zostały użyte komercyjne zestawy ELISA.

Wyniki: W grupie osób z CAD średnie \pm SD stężenie LBP wynosiło $41,5 \pm 33,9 \mu\text{g/ml}$, a w grupie kontrolnej osób zdrowych $13,8 \pm 13,3$ ($p < 0,0001$). Wśród osób z CAD: należących do grupy STAB mieli średnie \pm SD stężenie LBP: $24,8 \pm 23,3 \mu\text{g/ml}$, do grupy CABG: $47,2 \pm 32,1 \mu\text{g/ml}$, a ci z OZW: $72,4 \pm 32,2 \mu\text{g/ml}$. Różnice stężeń LBP pomiędzy trzema grupami pacjentów z CAD były znamienne: $p < 0,001$. Także różnica średniego stężenia LBP między osobami zdrowymi a grupą STAB była znamienna: $p = 0,0015$.

Wnioski: Powyższe dane potwierdzają, że pacjenci z miażdżycą tętnic wieńcowych charakteryzują się zdolnością do syntezy białka wiążącego lipopolisacharyd w wysokich stężeniach, które są zależne nie tylko od zaostrej fazy choroby, lecz także od liczby naczyń zajętych procesem miażdżycowym.

1757

Oznaczenia parametrów gospodarki lipidowej u pacjentów poddawanych angiografii naczyń wieńcowych

Paweł Burchardt¹, Tomasz Kubacki²,
Jakub Żurawski², Henryk Wysocki¹

¹Katedra i Klinika Intensywnej Terapii Kardiologicznej

i Chorób Wewnętrznych, Uniwersytet Medyczny

im. K. Marcinkowskiego, Poznań

²Katedra Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Medyczny

im. K. Marcinkowskiego, Poznań

Wstęp: Wysokie stężenia LDL, cholesterolu całkowitego (TC), triglicerydów (TG) i niskie HDL są uznanymi czynnikami ryzyka choroby niedokrwiennej serca (CNS) w populacji ogólnej. Niemniej, oznaczenie tych parametrów wydaje się niewystarczające w ocenie zaawansowania choroby u osób już stosujących preparat statyny. Projekt zakładał, na podstawie rutynowo stosowanych w praktyce klinicznej oznaczeń parametrów gospodarki lipidowej, próbę wyznaczenia wskaźnika wykazującego związek ze stopniem zaawansowania CNS u pacjentów stosujących terapię hipolipemizującą, kwalifikowanych do badania angiograficznego tętnic wieńcowych.

Metody: Oznaczenia apoproteiny B100, apoproteiny A1, LDL, TC, HDL, TG za pomocą rutynowo stosowanych technik laboratoryjnych wykonano u 140 kolejnych pacjentów zakwalifikowanych do badania koronarograficznego. Miażdżycę naczyń wieńcowych oceniano na podstawie istotności pojedynczego zwężenia oraz ilościowo z wykorzystaniem skali/kalkulatora Gensiniego.

Wyniki i wnioski: Stwierdzono, że stosunek osoczowych stężeń cholesterolu całkowitego do apoproteiny B100 był istotnie statystycznie niższy w grupie osób z hemodynamicznie istotnymi zwężeniami w świetle tętnic wieńcowych przyjmujących leczenie hipolipemizujące (niezależnie od stopnia intensywności terapii) w porównaniu z osobami bez jakichkolwiek zmian w naczyniach wieńcowych stosujących preparat statyny. Mechanizm odpowiedzialny za to zjawisko pozostaje w sferze spekulacji. Z kolei u osób bez angiograficznych zmian w świetle tętnic wieńcowych stosunek stężeń cholesterolu całkowitego do apoproteiny B100 był istotnie statystycznie wyższy w grupie stosującej preparat statyny w porównaniu z osobami bez takiego leczenia. Wyniki analizy wymagają potwierdzenia w większej grupie badanej.

1758

Angiotensin-converting enzyme inhibitors modulate activation of the tissue factor-thrombin pathway within aortic valves in patients with aortic stenosis: links between coagulation, inflammation and neovascularisation

Joanna Natorska¹, Grzegorz Grudzien², Jerzy Sadowski¹, Anetta Undas¹

¹Institute of Cardiology, Jagiellonian University School of Medicine, Cracow

²John Paul II Hospital, Cracow

Background: There is evidence that tissue factor (TF) and prothrombin expression coexists with inflammatory infiltrate and calcification within human aortic stenosis (AS) valves.

Aim: To investigate clinical variables that might affect the magnitude of expression of selected coagulation proteins and inflammatory markers in AS valves.

Methods: 111 consecutive patients with AS (62 M, 49 F, aged 63.3 ± 11.2 years, mean transvalvular gradient, 58.8 ± 23 mm Hg) scheduled for isolated valve replacement were studied. Valvular TF, TF pathway inhibitor (TFPI), prothrombin, C-reactive protein (CRP), and interleukin-6 (IL-6) expression was evaluated by immunostaining, and their transcripts were analysed by real-time quantitative PCR. Plasma TF, TFPI, prothrombin fragment F1+2, CRP and IL-6 were also determined.

Results: TF-, TFPI-, and prothrombin expression within valve leaflets was not related to demographics, body mass index, concomitant diseases, statin administration as well as plasma TF, free-TFPI, IL-6 and F1+2. Unexpectedly, patients treated with angiotensin-converting enzyme inhibitors (ACEIs, $n = 37$) showed decreased percentage of immunoreactive areas for TF ($13.64 \pm 6.43\%$ vs. $18.05 \pm 6.81\%$, $p = 0.03$), TFPI ($32.6 \pm 7.8\%$ vs. $47.15 \pm 9.5\%$, $p = 0.04$), prothrombin ($23.47 \pm 1.93\%$ vs. $26.61 \pm 1.4\%$, $p = 0.002$), and CRP ($0.75 [0-9]\%$ vs. $1.4 [0-8]\%$, $p = 0.03$) within aortic valve leaflets. The 4 antigens were colocalised. Valvular mRNA expression for prothrombin (0.13 ± 0.07 vs. 0.81 ± 0.37 , $p = 0.001$) and TF (1.22 ± 0.47 vs. 2.27 ± 1.42 , $p = 0.041$) was also lower in patients treated with ACEI. IL-6 expression was unaffected by ACEIs.

Conclusions: Use of ACEIs, but not statins, is associated with reduced expression of TF, and prothrombin along with CRP within aortic valves in AS patients, which might suggest novel potentially beneficial effects of these agents on AS progression.

1759

Identification of SSEA-4+ very small embryonic-like stem cells in human myocardium

Marcin Syzdół¹, Wojciech Wojakowski¹, Ewa Zuba-Surma², Adam Kowalówka³, Justyna Drukała⁴, Ryszard Bachowski³, Stanisław Woś³, Józef Dulak², Mariusz Ratajczak⁵, Michał Tendera¹

¹3rd Clinic of Cardiology, Silesian Medical University, Katowice

²Department of Medical Biotechnology, Jagiellonian University, Cracow

³2nd Department of Cardiac Surgery, Silesian Medical University, Katowice

⁴Department of Cell Biology, Jagiellonian University, Cracow

⁵Stem Cell Institute, Louisville, USA

Background: Very small embryonic-like cells (VSELs) is rare population of cells expressing pluripotent stem markers (Oct-4, Nanog, SSEA-4). The adult bone marrow-derived VSELs may be expanded and differentiated into all three germ layers. VSELs were identified in murine bone marrow and solid organs, umbilical cord blood and peripheral blood in humans.

Aim: Was to assess the endogenous presence of VSELs in human hearts and their mobilisation induced by cardiac surgery.

Methods: Patients with CAD undergoing CABG were enrolled. Fragments of right atrial appendage (RAA), internal mammary artery and BM samples were harvested. Blood samples (VSELs, EPCs, SDF-1, HGF, SCF, VEGF) were taken before, after weaning from cardiopulmonary bypass, after 24 h and 5–7 days. Fragments of RAA were cut ($0.5-1.0$ cm³), and enzymatically digested in collagenase I (2 mg/ml) for 30–45 min in 37°C. Cell suspension was stained with antibodies against stem cell markers, CD34 (FITC), CD133 (APC), SSEA-4 (PE), and CD45 (APC-Cy7) for 30 min. Cell were washed, fixed in 2% paraformaldehyde and resuspended in PBS. Nuclei were stained with 10 mM of Hoechst 33342 10 min before the analysis. Analyses were carried out on ImageStream X cytometer which is a platform combining classical flow cytometer and fluorescence microscope and collects real images of identified cells.

Results: Cardiac tissue contains very small (4.8 ± 0.6 μm) roundish (aspectratio 1:1) nucleated VSEL cells expressing embryonic antigens. ImageStreamsystem showed the presence of early developmental marker SSEA-4 on the surface of these cells. The cells express CD34 and CD133 stem cellmarkers and lack CD45 indicating their non-hematopoietic origin.

Conclusions: We demonstrated for the first time the presence of VSEL cells expressing embryonic marker SSEA-4 in adult human myocardium.

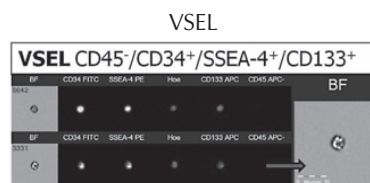


Figure. [1759]

Tabela. [1760]

Parametr	Pacjenci: heterozygoty	Pacjenci: zmutowane homozygoty	Pacjenci: oba warianty łącznie	Ochotnicy	Istotność: p hetero- v. homozygoty
SDDN	125 ± 30	115 ± 24	121 ± 28	142 ± 41	0,16
rMSSD	26 ± 12	26 ± 10	26 ± 11	27 ± 8	0,66
LF	1079 ± 1716	651 ± 725	865 ± 1389	510 ± 388	0,18
HF	248 ± 263	407 ± 512	326 ± 407	632 ± 631	0,17
LF/HF	5,18 ± 4,65	2,58 ± 2,22	4,9 ± 4,22	2,5 ± 3,5	0,01

1760

Ocena aktywności układu autonomicznego na podstawie monitorowania EKG metodą Holtera a haplotypy genu interleukiny-1beta u pacjentów z chorobą wieńcową

Tomasz Rechciński¹, Agnieszka Matusiak², Barbara Uznańska¹, Urszula Cieślak-Guerra¹, Ewa Trzos¹, Dominik Strapagiel³, Małgorzata Kurpesa¹, Jarosław D. Kasprzak¹, Magdalena Chmiela²

¹II Katedra i Klinika Kardiologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Łódź

²Katedra Immunologii i Biologii Infekcyjnej, Uniwersytet Łódzki, Łódź

³Katedra Biofizyki Molekularnej, Uniwersytet Łódzki, Łódź

Wstęp: Celem pracy było porównanie wpływu układu parasympatycznego na rytm serca na podstawie 24-godzinnych holterowskich zapisów EKG w zależności od wariantu genetycznego związanego z intensywnością biosyntezy prozapalnej interleukiny-1beta (IL-1b). Zbadano polimorfizmy pojedynczego nukleotydu w locus -511 i -31 regionu promotorowego genu IL-1b. Za wariant związany z tendencją do silnej produkcji IL-1b przez monocyty i makrofagi uznano zmutowane homozygoty, tj. TT w locus -31 i CC w -511, a za wariant ze słabą odpowiedzią — heterozygoty w obu loci.

Metody: Badaniem objęto 80 pacjentów po OZW z potwierdzoną angiograficznie miażdżycą tętnic wieńcowych (20% kobiet, 25% z cukrzycą typu 2 i 65% z nadciśnieniem tętniczym) oraz 20 ochotników bez choroby wieńcowej. Do rejestracji i analizy zmiennych analizy czasowej i częstotliwościowej HRV (SDNN, rMSSD, LF, HF, LF/HF) użyto aparatu i oprogramowania firmy Delmar Reynolds. Genotypowanie przeprowadzono metodą real-time PCR, używając technologii TaqMan SNP Genotyping Assays.

Wyniki: Haplotyp -31TT i -511CC zidentyfikowano u 27 pacjentów, a -31CT, -511CT u 20 osób. Wartości uzyskane z analizy zapisów holterowskich w całej badanej grupie oraz po uwzględnieniu haplotypów przedstawiono w tabeli.

Wnioski: Przedstawione wyniki wskazują na możliwość adaptacji aktywności układu parasympatycznego do uwarunkowanych genetycznie cech wpływających na intensywność subklinicznego stanu zapalnego.

1761

Mobilisation of Oct4+ very small embryonic-like cells induced by physical exercise in patients with coronary artery disease

Ecyta Nabiałek¹, Wojciech Wojakowski¹, Bogusław Machaliński², Maciej Kotowski², Ewa Zuba-Surma³, Maciej Kaźmierski¹, Magda Kucia⁴, Sebastian Dworowy¹, Mariusz Ratajczak⁴, Michał Tendera¹

¹3rd Clinic of Cardiology, Silesian Medical University, Katowice

²Department of General Pathology, Pomeranian Medical University, Szczecin

³Department of Medical Biotechnology, Jagiellonian University, Cracow

⁴Stem Cell Institute, Louisville, USA

Background: Very small embryonic-like cells (VSELs) is rare population of cells expressing pluripotent stem markers (Oct-4, Nanog, SSEA-4). The adult bone marrow-derived VSELs may be expanded and differentiated into all three germ layers. VSELs were identified in murine bone marrow, umbilical cord blood and peripheral blood in humans. They may be mobilised in acute coronary syndromes and stroke and participate in tissue repair.

Aim: To assess the mobilisation of VSELs in healthy subjects and patients with CAD following physical exercise during treadmill stress test.

Methods: 60 patients with previous acute myocardial infarction treated with PCI and 30 healthy subjects were enrolled. Blood (10 mL) samples were taken before, 15 and 60 minutes after the treadmill exercise test. VSELs (CD34+lin-CD133+CD45-) were sorted using multiparameter cell sorting system (FACS Aria) and used for real-time RT-PCR, Image Stream and immunochemistry. Plasma levels of von Willebrand factor, IL-18, SDF-1, HGF, VEGF, SCF were measured.

Results: In healthy subjects and CAD patients number of circulating VSELs is low (1.4 ± 0.3 cells/ μ L). After treadmill exercise test VSELs were mobilised into peripheral blood after 60 min (3.2 ± 0.8 ; $p < 0.03$ vs. baseline). VSELs are small (7–8 μ m), enriched in mRNA of PSC (Oct-4, Nanog), cardiac (GATA-4, Nkx2.5/Csx, MEF2C) and endothelial markers (VE-cadherin), coexpressed Oct-4, Nanog and CXCR4. Mobilisation was positively correlated with SCF levels ($R = 0.36$; $p = 0.04$) and nega-



Figure. [1761]

tively with extent of CAD in angiography (1- vs. 2- and 3-vessel disease).

Conclusions: Short period of physical exercise induces mobilisation of VSELs expressing early developmental markers. Mobilisation is reduced in patients with diffuse coronary atherosclerosis.

1762

Nieinwazyjna ocena hemodynamiki osób z zespołem Williamsa

Tomasz Wierzba¹, Piotr Gutknecht², Andrzej Molisz²,
Bartosz Trzeciak², Krzysztof Malinowski¹

¹Katedra i Zakład Fizjologii, Gdański Uniwersytet Medyczny, Gdańsk

²Katedra Medycyny Rodzinnej, Gdański Uniwersytet Medyczny, Gdańsk

Wprowadzenie nowych metod nieinwazyjnych diagnostyki układu sercowo-naczyniowego rozszerzyło zakres etycznie akceptowalnych badań diagnostycznych, z udziałem osób, u których nie występują bezpośrednie wskazania do diagnostyki inwazyjnej. Dotychczas nie przeprowadzono analizy czynnościowej układu krążenia w reprezentatywnej grupie osób z zespołem Williamsa, w którym opisano liczne warianty uszkodzenia genów, wiążących się z zaburzeniem struktury ścian naczyń krwionośnych i elementów podporowych serca. Zespół Williamsa jest rzadkim, genetycznie uwarunkowanym zespołem wad wrodzonych występującym z częstotliwością 1:10 000 urodzeń, z charakterystyczną dysmorfią twarzy, częstym współistnieniem wad serca i naczyń i niepełnosprawnością intelektualną. Zmniejszona wytrzymałość na rozciąganie i na czynniki metaboliczne o właściwościach utleniających, związana z niedoborem lub nieprawidłową budową elastyny, mogą prowadzić do przyspieszonej destrukcji ścian naczyń, czego efektem jest przedwczesne starzenie i zwiększone ryzyko nagłego zgonu. Celem badań była ocena czynnościowa układu krążenia u osób z zespołem Williamsa, w tym wyznaczników: objętości wyrzutowej, kurczliwości serca, dystrybucji osocza i płynu tkankowego w klatce piersiowej, rozprzestrzeniania fali tętna, obciążenia ciśnieniowego ścian tętnic i serca, odruchowego sterowania rytmem serca przy użyciu nieinwazyjnych metod diagnostycznych: elektrokardiografii o wysokiej rozdzielczości, kardiografii impedancyjnej i tonometrii aplanacyjnej. Badaną grupę stanowiło 15 osób z zespołem Williamsa w wieku 10–22 lata oraz 15 zdrowych osób w równoważnym wieku stanowiących grupę kontrolną. W grupie osób z zespołem Williamsa odnotowano: zwiększony opór naczyń obwodowych, ze zwiększoną dynamiką fali tętna i współczynnikiem odbicia, obniżonymi wskaźnikami kurczliwości lewej komory serca i większą zawartością płynu w klatce piersiowej. Ponadto zarejestrowano większą spoczynkową czę-

stość akcji serca, związaną ze zwiększonym udziałem komponenty współczulnej autonomicznej regulacji rytmu serca, na co wskazuje podwyższona wartość współczynnika LF/HF zmienności rytmu serca (HRV). Profil hemodynamiczny osób z zespołem Williamsa odpowiada charakterystyce krążeniowej osób zdrowych o 20–30 lat starszych, co potwierdza koncepcję przedwczesnego starzenia się. Dotychczasowe wstępne badania wskazują natomiast na prawidłową odpowiedź sercową i ciśnieniową podczas próby wysiłkowej o umiarkowanej intensywności, co nie potwierdza potencjalnych przeciwwskazań do rutynowej aktywności fizycznej tych osób.

1763

Mast cells in stenotic aortic valves: associations with inflammation and the severity of stenosis

Ewa Wypasek¹, Joanna Natarska¹, Grzegorz Grudzień²,
Jerzy Sadowski¹, Anetta Undas¹

¹Institute of Cardiology, Jagiellonian University School of Medicine, Cracow

²John Paul II Hospital, Cracow

Aortic stenosis (AS) is characterised by fibrosis and infiltration of inflammatory cells notably macrophages, T lymphocytes, and mast cells (MCs). The presence of activated MCs and their mediators in the fibrotic lesions of the aortic valves suggest that they may participate in the induction of fibrosis and calcification with ensuing valve stiffening (Helske 2006, 2004). The aim of the current study was to investigate the presence of MCs expressed in aortic valves obtained from AS patients vs. patients with aortic insufficiency (AI) and their correlations with echocardiographic parameters and inflammatory and fibrinolytic protein expression within aortic valves. We studied 40 patients (16 men, 24 women) with dominant AS (age 62.2 ± 11.12 years, mean gradient 59.55 ± 19.16 mm Hg), and 20 well matched patients with dominant aortic insufficiency (AI) undergoing elective aortic valve replacement. Immunohistochemistry was performed on decalcified leaflets using appropriate primary antibodies and followed by avidin-biotin complex immunoperoxidase system. AS valves were characterised by an increased (all, $p < 0.001$) percentage of MC positive ($7.5 \pm 2.95\%$) and macrophages containing ($27.6 \pm 7.1\%$) areas detected mainly on the aortic side of the leaflets, compared with AI valves ($1 \pm 3.91\%$ and $7.4 \pm 2.3\%$, $p < 0.001$, respectively). Macrophages and MCs colocalised in the valvular tissue. Percentage of MC positive areas positively correlated with aortic jet velocity (V max, $r = 0.68$, $p = 0.0005$), maximal ($r = 0.73$, $p < 0.0001$) and mean ($r = 0.78$, $p < 0.0001$) gradients and calcification degree ($r = 0.44$, $p = 0.004$). The inverse correlation with aortic valve area (AVA, $r = -0.71$, $p = 0.00004$) was observed. Moreover, expression of plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) and C-reactive protein (CRP) were positively

correlated with percentage of MC-positive cells ($r = 0.54$, $p = 0.0003$ and $r = 0.58$, $p = 0.0001$, respectively). We conclude that MCs may enhance inflammation and impair fibrinolysis within stenotic aortic valves thus contributing to AS progression. One might speculate that high shear stress in advancing AS may activate MC and increase their infiltration within aortic valves. Like in atherosclerosis, in AS MCs are implicated in the development of the disease.

1764

Potential role of osteoprotegerin in stem cells homing behavior after hypoxia

Ewa Stępień¹, Elżbieta Stankiewicz², Małgorzata Sekuła³,
Mieczysław Pasowicz⁴, Grzegorz Grudzień⁵,
Krzysztof Żmudka⁶, Jerzy Sadowski⁵

¹Chair of Clinical Biochemistry, Jagiellonian University,
Medical College, Cracow

²Cardiac Homograft Cryobank of The Children's Memorial Hospital,
Warsaw

³Department of Transplantology, Jagiellonian University,
Medical College, Cracow

⁴John Paul II Hospital, Cracow

⁵Department of Cardiac and Vascular Surgery and Transplantology,
Jagiellonian University, Medical College, Cracow

⁶Institute of Cardiology, Jagiellonian University, Medical College,
Cracow

Background: Hypoxia induces stem cells migration through different mechanisms. We tested the hypothesis that osteoprotegerin may contribute to hypoxia-associated migration of non-differentiated stem cells.

Methods: Osteoprotegerin, SDF-1 and the phenotype and the number of circulating stem cells were determined in 14 STEMI patients admitted within 12 hours after the pain chest onset and 14 healthy control subjects matched by sex and age. In the *in vitro* model, the osteoprotegerin release and chemotaxis of hypoxic endothelial cells were investigated.

Results: Plasma osteoprotegerin and SDF-1 levels were significantly elevated in STEMI patients compared to control: 3.79 (2.54–5.83) vs. 3.0 (1.3–6.5) pM, $p < 0.005$ and 3446 (2478–4459) vs. 2256 (1871–2881) pg/mL, $p < 0.001$, respectively. A trend toward decrease in cell number of different populations of lymphocytes was observed 72 hours after percutaneous cardiac intervention. The significantly lower number of CD34+CD133+CXCR4+ and CD34+CD117+ circulating cells after angioplasty was detected ($p < 0.005$). Hypoxia stimulated endothelial cells to secretion of osteoprotegerin as demonstrated in the *in vitro* study. The percentage of migrated non-differentiated stem cells in response to the hypoxia preconditioned endothelial cell medium was significantly higher than in harvested during normoxia medium (58% [53–62] vs. 68% [63–71], $p < 0.005$).

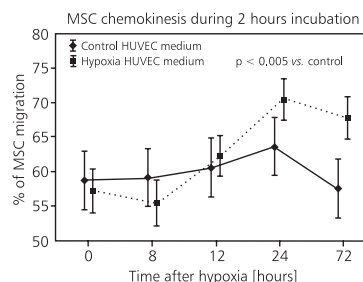


Figure. Chemokinesis of mesenchymal stem cells induced by hypoxia preconditioned HUVEC medium [1764]

Conclusions: Above findings indicate that osteoprotegerin may contribute to migration and homing of the non-differentiated cells after myocardial infarction by the hypoxia-induced endothelial guidance.

1765

Wpływ kardiowersji elektrycznej na agregację płytek krwi

Marcin Makowski¹, Ireneusz Smora², Andrzej Bissinger¹,
Tomasz Grycewicz¹, Konrad Masiarek¹, Karolina Szymańska¹,
Andrzej Lubiński¹, Zbigniew Baj²

¹Klinika Kardiologii Interwencyjnej i Kardiodiabetologii,
Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Łódź

²Zakład Patofizjologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Łódź

Wstęp: Migotanie przedsionków jest jedną z głównych przyczyn kardiogennego udaru mózgu. Mechanizmy uczestniczące w powstawaniu materiału zatorowego w jamach przedsionków uwzględniają wszystkie składowe triady Virchowa. Rola płytek krwi w powstawaniu powikłań zatorowych oraz tworzenie przez nie agregatów do chwili obecnej nie są w pełni wyjaśnione.

Cel: Celem badania jest ocena wpływu kardiowersji elektrycznej migotania przedsionków na aktywację płytek krwi wyrażoną liczbą agregatów płytkowych, płytkowo-leukocytarnych oraz mikroplatek.

Metody: Do badania włączono grupę 30 mężczyzn z samoistnym migotaniem przedsionków kierowanych do planowej kardiowersji elektrycznej. Sposób przeprowadzenia kardiowersji elektrycznej (EC, *electric cardioversion*) był zgodny z obowiązującymi standardami Polskiego Towarzystwa Kardiologicznego. Pacjenci z przetrwałym migotaniem przedsionków zgodnie z zaleceniami PTK otrzymywali leki przeciwkrzepliwe (Acenocumarol pod kontrolą INR 2,0–3,0) na 4 tygodnie przed kardiowersją. Każdy pacjent kierowany do kardiowersji elektrycznej wyraził świadomą zgodę na sposób przerwania arytmii — kardiowersję oraz na włączenie do badania. Kardiowersję wykonywano energią dwufazową 50–200 J (defibrylator Zoll–Zoll Corp. USA). Krew obwodową w celu oceny płytek krwi oraz stężenia fibrynogenu (Fbg) pobierano w dwóch punktach

czasowych: T0 — w trakcie trwania migotania przedsionków, T1 — 30 minut po wykonaniu kardiowersji elektrycznej. Ocena aktywacji płytek krwi, tworzenia agregatów płytkowych i płytkowo-leukocytarnych, średniej objętości płytek (MPV) oraz liczby mikroplatek została przeprowadzona z użyciem cytometru przepływowego Becton Dickinson. Stężenie fibrynogenu oznaczono metodą Claussa (Multifibren U; Dade Behring Diagnostics; Behring Fibrintimer).

Wyniki: Odsetek agregatów płytkowych i mikroplatek istotnie statystycznie zwiększyły się po wykonaniu kardiowersji elektrycznej (T0 v. T1 $4,9 \pm 1,6\%$ v. $6,7 \pm 1,6\%$; $p < 0,01$, mikroplatek — $1,68 \pm 0,98$ v. $2,25 \pm 1,45$; $p < 0,005$). MPV uległa znaczącemu obniżeniu w T1 (T0 v. T1 $9,3 \pm 0,4$ fl v. $8,8 \pm 0,5$ fl; $p < 0,01$). Liczba agregatów płytkowo-leukocytarnych i ekspresja składowej receptora dla fibrynogenu CD41 (MFI) nie uległy istotnym zmianom. Stwierdzono istotne zmniejszenie stężenia Fbg po wykonaniu EC (T0 v. T1: $350,3 \pm 33,1$ mg/dl v. $297,7 \pm 45,1$ mg/dl; $p < 0,0005$).

Wnioski: Zwiększona ilość agregatów płytkowych, mikroplatek oraz obserwowane zmiany w objętości płytek krwi wskazują na bezpośredni aktywujący wpływ impulsu elektrycznego stosowanego w kardiowersji na układ płytek. Zmiany stężenia Fbg po kardiowersji elektrycznej oraz wzrost liczby agregatów płytkowych mogą odgrywać rolę w patogenezie powikłań zakrzepowo-zatorowych w następstwie kardiowersji elektrycznej migotania przedsionków.

1766

Influence of ezetimibe on antioxidant parameters in rat liver subjected to ischaemia/reperfusion

Małgorzata Trocha, Anna Merwid-Łąd, Ewa Chlebda, Tomasz Sozański, Małgorzata Pieśniewska, Lidia Fereniec-Gołębiewska, Adam Szelaż

Department of Pharmacology, Wrocław Medical University, Wrocław, Poland

Elevation of cholesterol and lipoproteins are well-known risk factors of atherosclerosis. Ezetimibe is a new class of selective inhibitors of cholesterol intestinal absorption, but its pleiotropic effects are not well known till known. Antioxidant action of this drug might play a great role in organ undergoing ischaemia/reperfusion e.g. liver. In such conditions overproduction of reactive oxygen species is observed what results in liver cells damages. Aim of the study was to evaluate influence of ezetimibe on the oxido-redox status in rat liver subjected to ischaemia/reperfusion (I/R). The study was carried out on Wistar male rats. Four experimental groups of rats ($n = 8-9$), were housed in standard laboratory conditions. Rats in groups C0 and C-I/R did not receive ezetimibe, groups E0 and E-I/R were treated with ezetimibe intragastrically at the daily dose of 5 mg/kg b.w.,

Table. Antioxidant parameters in rat liver [1766]

	SOD [U/mg of protein]; mean \pm SD	GSH [micromol/L]; mean \pm SD
C0	1021.55 \pm 117.6	90.69 \pm 8.87
C-I/R	989.83 \pm 90.51	90.51 \pm 4.21
		($p < 0.05$, C-I/R vs. E-I/R)
E0	971.338 \pm 75.56	96.56 \pm 6.65
E-I/R	962.38 \pm 69.32	99.91 \pm 9.01

once a day for 21 days. Rats were anaesthetised with intramuscular injection of ketamine (7 mg/kg) and medetomidine (0.1 mg/kg). After a suitable level of anaesthesia was achieved, the rats underwent midline laparotomy. In groups: C-I/R and E-I/R rats were subjected to ischaemia/reperfusion. A 70% liver ischaemia (left lateral and median lobes) was achieved by occluding the branches of the portal vein and hepatic artery using a microvascular clip. Rats were given heparin (200 U/kg) to prevent blood coagulation. After 60 min of ischaemia, the clip was removed to allow reperfusion for 4 h. The abdomen was subsequently closed and the rats were observed during reperfusion. Thereafter, the experiment was terminated and the livers were isolated, weighted and homogenised on ice using lysis buffer (140 mM NaCl, 10 mM EDTA, 10% glycerol, 1% NP40, 20 mM Tris base, pH 7.5). The homogenised tissues were thereafter centrifuged at 14,000 rpm for 25 min at 4°C and supernatants were collected. In liver homogenates superoxide dismutase (SOD) and glutathione (GSH) were estimated using the colorimetric methods. SOD activity was expressed as U/mg of protein. Ezetimibe did not alter significantly SOD activity. Significant difference was also found between groups subjected to I/R. In ezetimibe-treated group GSH level was significantly higher than in non-treated group (C-I/R vs. E-I/R, $p < 0.05$). In our work antioxidant effect of ezetimibe in rat liver subjected to IR was revealed. These results may indicate that ezetimibe administered chronically could have a protective action in patients undergoing such procedures as liver transplantation (tab.).

1767

Zaburzenia czynności kinaz Src jako substrat czynnościowy predysponujący do migotania przedsionków

Tomasz Bonda¹, Magdalena Dziemidowicz¹, Tomasz Hirnle², Iwona Dmitruk², Karol Kamiński³, Maria M. Winnicka¹

¹Zakład Patologii Ogólnej i Doświadczalnej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, Białystok

²Klinika Kardiologii, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, Białystok

³Klinika Kardiologii, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, Białystok

Wstęp: Migotanie przedsionków (MP) jest związane z zaburzeniami funkcjonowania kanałów jonowych, w tym przede

wszystkim z zaburzeniem funkcji wolnego kanału wapniowego. Wykazano, że kinaza tyrozynowa Src wywiera efekt hamujący na kanał wapniowy, stąd hipoteza, iż białko to może brać udział w patogenezie migotania przedsionków.

Cel: Celem niniejszej pracy była ocena ekspresji i aktywności kinazy Src w tkance prawego przedsionka u chorych poddawanych operacjom kardiologicznym i jej powiązanie z wystąpieniem pooperacyjnego migotania przedsionków.

Metody: Fragment uszka prawego przedsionka pobrano od 42 pacjentów bez wcześniejszego wywiadu MP poddawanych operacjom kardiologicznym, których następnie obserwowano pod kątem wystąpienia epizodu pooperacyjnego MP w okresie pobytu w szpitalu. Ekspresję całkowitą oraz stopień fosforylacji białka Src, a także ekspresję białek regulujących aktywność Src wykonano metodą western blot.

Wyniki: Pooperacyjne MP wystąpiło u 14 chorych, różniących się od pozostałych pod względem podstawowych wskaźników demograficznych i echokardiograficznych. Ekspresja i fosforylacja Src w grupie pooperacyjnego MP była istotnie wyższa niż u osób bez arytmii. Nadekspresja Src w grupie MP wykazywała istotną dodatnią korelację z podwyższonym poziomem receptorów dla PDGF oraz czynnika STAT3.

Wnioski: Nadmierna aktywność kinazy Src może być substratem czynnościowym predysponującym do wystąpienia pooperacyjnego migotania przedsionków, a jej dodatnie korelacje z ekspresją PDGFR oraz STAT3 sugerują zaangażowanie w patogenezę tej arytmii lokalnych mechanizmów zapalnych.

1768

Rola interleukiny-6 w zależnej od stymulacji beta-adrenergicznej aktywacji szlaku MEK/ERK w sercu myszy

Magdalena Dziemidowicz¹, Karol Kamiński²,
Tomasz Bonda¹, Andrzej Taranta¹, Włodzimierz Musiał²,
Maria Małgorzata Winnicka¹

¹Zakład Patologii Ogólnej i Doświadczalnej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, Białystok

²Klinika Kardiologii, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, Białystok

Przewlekła aktywacja układu współczulnego (w przebiegu takich chorób, jak nadciśnienie tętnicze, choroba wieńcowa, niedokrwienie mięśnia sercowego) może doprowadzić do niekorzystnych zmian w mięśniu sercowym. Wynikają one między innymi z aktywacji procesu zapalnego oraz indukcji apoptozy, aczkolwiek dokładny patomechanizm tych procesów nie został jeszcze poznany. Dotychczasowe doniesienia sugerują, że interleukina-6 może być zaangażowana w efekty stymulacji beta-adrenergicznej. Celem pracy była ocena wpływu IL-6 na aktywację szlaków przekazywania sygnałów wewnątrzkomórkowego po długotrwałym podawaniu izoproterenolu. Badania prowadzono na 12-tygodniowych 28 samcach myszy (w tym połowa zwierząt transgenicznych, niewytwarzających IL-6); 16 zwie-

rząt otrzymywało izoproterenol w dawce 50 mg/kg/d. *i.p.* przez 15 dni; pozostałe 12 myszy otrzymywało placebo. Dwadzieścia cztery godziny po ostatniej iniekcji zwierzęta uśmiercono oraz pobrano mięsień lewej komory serca do dalszych badań. Wykonano ocenę ekspresji szeregu genów biorących udział w wewnątrzkomórkowym przekazywaniu sygnałów na poziomie transkrypcji (ilość mRNA metodą RT-PCR), a następnie ocenę ilości oraz aktywności wybranych białek metodą Western Blotting. U zwierząt pozbawionych IL-6 otrzymujących izoproterenol stwierdzono wyższą fosforylację białek ERK1 i ERK2 (należących do szlaku MEK/ERK), co było komplementarne z nadekspresją mRNA czynników zależnych od szlaku MEK/ERK (*myc* (2,3x), *CEBPB* (1,95x), *BMP4* (3,6x), *Fasn* (3,2x), *Tert* (2x), *Tank* (2,1x). Ponadto u zwierząt transgenicznych zaobserwowano zwiększoną ekspresję mRNA dla czynników prozapalnych należących do kaskad Jak-Stat, NFAT, PKC, NFkB oraz szlaku inicjowanego przez insulinę. IL-6 wydaje się pełnić istotną rolę w hamowaniu nadmiernej aktywacji szlaku MEK/ERK w sercu w odpowiedzi na stymulację beta-adrenergiczną.

1769

Które spośród parametrów osoczowych najlepiej odzwierciedlają poziom żelaza w sercu oraz białek odpowiedzialnych za jego metabolizm?

Przemysław Leszek¹, Barbara Sochanowicz²,
Małgorzata Szperl¹, Piotr Kolsut¹, Kamil Brzoska²,
Walerian Piotrowski¹, Tomasz Rywik¹, Bożena Danko²,
Jacek Różański¹, Marcin Kruszewski²

¹Instytut Kardiologii, Warszawa

²Instytut Chemii i Techniki Jądrowej, Warszawa

Wstęp: Na podstawie badań klinicznych wiadomo, że *i.v.* korekta niedoboru żelaza (Fe) prowadzona w terapii niewydolności serca (NS) przynosi obiecujące krótkotrwałe wyniki, podczas gdy jej długotrwały efekt jest nieznan. Rozpoznanie niedoboru oraz dalsza kwalifikacja do suplementacji Fe prowadzone są na podstawie oceny osoczowych markerów gospodarki Fe: poziom ferrytyny (FR), transferyna/wysycenie (TR/TSAT). Brakuje prac oceniających w niewydolnym miokardium zawartość Fe (Fe-M), ferrytyny (FR-M) i receptora transferyny (sTfR-M) oraz związku z uznanymi osoczowymi markerami gospodarki Fe. FR to główne białko wiążące, sTfR zaś reguluje akwizycję Fe do komórki.

Cel: Celem pracy było ocena związku pomiędzy Fe-M, FR-M, sTfR-M a osoczowymi markerami Fe w populacji chorych z zaawansowaną NS.

Metody: Grupa badana to 33 pacjentów poddanych transplantacji serca (średni wiek 48 lat), w której oceniono parametry: Fe, FR, TR/TSAT, sTfR sTfR/logFR TIBC, UIBC, EPO w osoczu. W NS oceniono: Fe-M (Neutron Activation Analysis — $\mu\text{g/g}$), FR-M, sTfR-M (ELISA — ng/mg białka), porównując do zdrowych serc.

Wyniki: Grupa NS prezentowała: powiększenie lewej komory (LK) (EDD/ESD $69 \pm 10/60 \pm 13$ mm; EF $22 \pm 11\%$), prawej komory (PK) ($31,5 \pm 10$ mm); NTproBNP (5464 ± 4825 pg/ml); hsCRP ($0,71 \pm 0,99$ mg/dl), TNF α ($15,5 \pm 9,7$ pg/ml). Analiza regresji wielu zmiennych/korelacja Pearsona pomiędzy oznaczonymi markerami osoczymymi niezależne czynniki dla LK: Fe-M-sTfR/logFR ($R^2 = 0,18$; $p = 0,04$; $r = -0,49$, $p = 0,04$, odpowiednio), sTfR-M-sTfR/logFR ($R^2 = 0,52$; $p < 0,0001$; $r = -0,77$; $p < 0,0001$), FR-M-FR ($R^2 = 0,17$; $p = 0,03$; $r = 0,42$; $p = 0,03$); PK: Fe-M-sTfR ($R^2 = 0,29$; $p = 0,03$; $r = -0,44$; $p = 0,03$, odpowiednio), sTfR-M-sTfR/logFR ($R^2 = 0,38$; $p = 0,0005$; $r = -0,62$; $p = 0,0005$), FR-M-TR ($R^2 = 0,24$; $p = 0,009$; $r = -0,48$; $p = 0,009$). W zależności od Fe-M chorych podzielono na dwie podgrupy: z obniżonym ($n = 14$) i nieobniżonym Fe-M ($n = 19$). Obie podgrupy prezentowały podobny stopień uszkodzenia LK/PK, NT-proBNP. Poziom FR-M był niższy w podgrupie z obniżonym Fe-M (LK: 178 ± 80 v. 199 ± 51 ; $p = 0,08$) oraz (PK: 159 ± 46 v. 189 ± 39 ; $p = 0,024$), bez różnic w sTfR-M.

Wnioski: W niewydolnym mięśniu sercowym adekwatna charakterystyka gospodarki Fe wymaga oznaczenia w osoczu TR, FR, jak również sTfR i kalkulacji sTfR/logFR. W podgrupie z obniżonym Fe-M stężenie białka wiążącego Fe-FR-M jest niższe, przy braku istotnych różnic w stopniu uszkodzenia LK/PK.

1770

Wpływ wieku na czynność rozkurczową okołonaczyniowej tkanki tłuszczowej

Marek Deja, Marcin Malinowski, Krzysztof Gołba, Stanisław Woś

II Klinika Kardiologii, Śląski Uniwersytet Medyczny, Katowice

Cel: Celem pracy była ocena, czy wpływ rozkurczowy ludzkiej okołonaczyniowej tkanki tłuszczowej zależy od czynników klinicznych.

Metody: Analizie poddano rekcję rozkurczową w odpowiedzi na ADRF wydzielany z tkanki okołonaczyniowej ludzkiej tętnicy piersiowej wewnętrznej (ITA). W trakcie operacji kardiologicznych pobierano odrzucone fragmenty ITA. W laboratorium tętnice uwalniano z otaczającej tkanki i 3 mm pierścienie montowano w kąpielni tkankowej natlenianej karbogenem. Osobno inkubowano tkankę okołonaczyniową. Po okresie stabilizacji i normalizacji napięcia ściany naczyniowej fragmenty naczyń obkurczano 60 mM KCl. Po odpłukaniu naczynie obkurczono $10^{-5.5}$ M serotoniny. Następnie do kąpeli tkankowej wprowadzano fragment tkanki tłuszczowej okołonaczyniowej i obserwowano rozkurcz, który zgodnie z wcześniejszymi doświadczeniami przypisujemy wydzielaniu ADRF. Wielkość rozkurczu wyrażano procentach skurczu wywołanego serotoniną. Równocześnie odnotowywano szereg cech demograficznych i klinicznych pacjenta.

Wyniki: Przebadano segmenty tętnic pochodzące od 168 pacjentów (125 mężczyzn; wiek $65,3 \pm 8,4$ roku). Rozkurcz pod

wplywem tkanki tłuszczowej wynosił średnio $50,4 \pm 2,1\%$. Średnia waga segmentu tłuszczu to 713 ± 501 g. Nie stwierdzono jednoznacznej zależności wielkości rozkurczu od masy fragmentu tkanki tłuszczowej ($p = 0,059$). Obserwowano wzrost siły rozkurczu wraz z nasileniem otyłości ($r = 0,14$; $p = 0,04$) oraz spadek siły rozkurczu wraz z wiekiem ($r = -0,28$; $p = 0,002$). Nie obserwowano zmian siły rozkurczu w cukrzycy ani w nadciśnieniu. Obserwowano mniejszy wpływ rozkurczowy tkanki okołonaczyniowej u pacjentów z wyższą klasą dławicy wg CCS: odpowiednio CCS 0: $57,7 \pm 7,9\%$, CCS 1: $51,9 \pm 4,5\%$, CCS 2: $56,9 \pm 3,1\%$, CCS 3: $46,7 \pm 3,6\%$, CCS 4: $30,2 \pm 6,9\%$ ($p = 0,005$). W analizie wieloczynnikowej najsilniejszym predyktorem siły działania rozkurczowego tkanki tłuszczowej okołonaczyniowej był wiek.

Wnioski: Zmienność wpływu rozkurczowego tkanki okołonaczyniowej w zależności od parametrów klinicznych i demograficznych może wskazywać na rolę fizjologiczną tego zjawiska.

1771

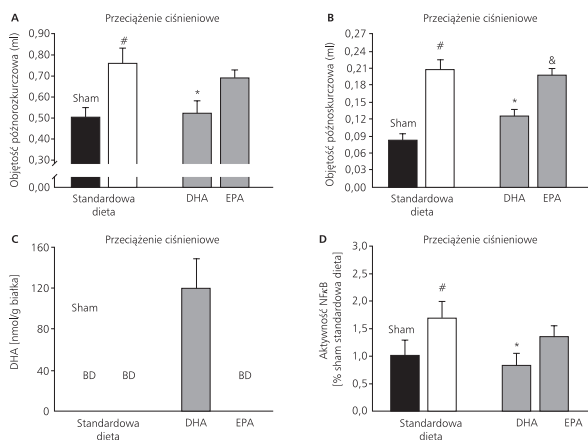
Suplementacja kwasem dokozaheksaenowym, ale nie kwasem eikozapentaenowym, hamuje aktywność NF-kappaB i zapobiega dysfunkcji lewej komory serca w odpowiedzi na przeciążenie ciśnieniowe

Monika Duda¹, Paweł Dobrzyń², Michał Mączewski¹, Agnieszka Dobrzyń², Urszula Mackiewicz¹

¹Zakład Fizjologii Klinicznej, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa

²Pracownia Sygnałów Komórkowych i Zaburzeń Metabolicznych, Instytut Biologii Doświadczalnej im. Nenckiego, Warszawa

Wzrost aktywności czynnika transkrypcyjnego NF- κ B oraz NF- κ B-zależnych ścieżek sygnalizacyjnych odgrywa istotną rolę w rozwoju niewydolności serca. Wielonienasycone kwasy tłuszczowe omega-3 — kwas dokozaheksaenowy (DHA) i kwas eikozapentaenowy (EPA) — są inhibitorami NF- κ B, co może być skuteczne w zapobieganiu rozwojowi niewydolności serca. Badania pokazują, że suplementacja diety mieszaniną kwasów DHA i EPA działa kardioprotekcyjnie, natomiast niewiele wiadomo o efekcie, jaki wywiera na serce każdy z kwasów niezależnie. Celem pracy było poznanie i porównanie wpływu DHA i EPA na aktywność NF- κ B i patologie lewej komory serca (LV) w odpowiedzi na przeciążenie ciśnieniowe. U szczurów karmionych dietą kontrolną oraz dietami wzbogaconymi DHA lub EPA (3% całkowitej energii) indukowano przeciążenie ciśnieniowe, zwięzając aortę brzuszna. Po 12-tygodniowej obserwacji wykonano badanie echokardiograficzne i oceniono aktywność NF- κ B (ELISA), aktywność metaloproteinazy MMP-2 (zymografia), ekspresję genów szlaków NF- κ B-zależnych (RT-PCR) i skład lipidowy LV (chromatografia). Po 12 tygodniach u zwierząt karmionych dietą standardową przeciążenie ciśnieniowe prowadziło do 40% przerostu lewej komory (stosunek masy LV do długości skurczowej) oraz przebudowy i upośledzenia funkcji skurczowej LV, co przejawiało się odpowiednio wzrostem objętości późnorozkurczowej (ryc. 1A) i późnoskur-



Rycina 1. Objętość późnorozkurczowa (A) i późnoskurczowa (B) LV oraz zawartość DHA we krwi wolnych kwasów tłuszczowych LV (C) i aktywność NF-kappaB w LV (D) po 12 tygodniach przecięcia ciśnieniowego; #p < 0,05 v. Sham, *p < 0,05 v. Standardowa dieta [1771]

czowej (ryc. 1B). Towarzyszył temu wzrost aktywności NF-κB (ryc. 1D) oraz zmiany w NF-κB-zależnych ścieżkach sygnalizacyjnych: (a) wzrost ekspresji mRNA dla prozapalnych cytokin TNFα i IL-1β, (b) wzrost ekspresji mRNA dla proapoptycznej kaspazy 3, (c) wzrost ekspresji mRNA dla sztywnego kolagenu typu I, (d) wzrost aktywności MMP-2. Suplementacja diety DHA zwiększała zawartość DHA we frakcji wolnych kwasów tłuszczowych (ryc. 1C), zapobiegała wzrostowi masy oraz objętości późnorozkurczowej i późnoskurczowej. Dodatkowo obserwowano spadek aktywności NF-κB oraz (a) spadek ekspresji mRNA dla TNFα i IL-1β, (b) wzrost ekspresji mRNA dla czynnika bcl2 hamującego kaspazę 3, (c) spadek ekspresji mRNA dla kolagenu typu I, (d) wzrost ekspresji mRNA dla tkankowych inhibitorów metaloproteinaz TIMP1 i TIMP4, (e) spadek aktywności MMP-2. Efektów tych nie obserwowano w przypadku suplementacji diety EPA. Podsumowując, suplementacja diety jedynie DHA, a nie EPA, zapobiega przerostowi, przebudowie i upośledzeniu funkcji skurczowej LV. Efekty te są związane ze zmniejszoną aktywnością NF-κB oraz NF-κB-zależnych ścieżek sygnalizacyjnych regulujących odpowiedź zapalną, apoptozę i strukturę macierzy zewnątrzkomórkowej miokardium. Zmiany te mogą być wtórne do pojawienia się we frakcji wolnych kwasów tłuszczowych LV DHA, który może bezpośrednio regulować aktywność jądrowych czynników transkrypcyjnych.

1772

Zmienność rytmu oddechowego jako dominujący czynnik w zmienności rytmu serca?

Teodor Buchner

Pracownia Fizyki Układu Krążenia, Wydział Fizyki,
Politechnika Warszawska, Warszawa

Istnieje coraz więcej przesłanek za przyjęciem tezy, że dominującą rolę w zmienności rytmu serca ma rytm oddechowy i to jego zmienność obserwujemy. Niniejsze doniesienie porządkuje dane literaturowe na ten temat i na ich podstawie prezentuje wyniki działania modelu matematycznego, wskazując na jego ścisłe związki z obserwacjami fizjologicznymi. Od czasu eksperymentów Katony i wsp. [1] wiadomo, że wychłodzenie nerwu błędnego prowadzi do redukcji zmienności rytmu, podobnie jak farmakologiczny blok gałęzi przywspółczulnej AUN. Resztkowa zmienność rytmu w tych warunkach pozbawiona jest zupełnie informacji klinicznych, decydujących chociażby o wartości rokowniczej zmienności rytmu. W związku z tym nasuwa się pytanie o faktyczne źródło zmienności rytmu serca: czy nie jest nim zmienność rytmu oddechowego? Zmienność rytmu oddechowego obserwowana jest przede wszystkim w paśmie HF, ale brak aktywności w tym paśmie nie świadczy jeszcze o braku związku pomiędzy rytmem oddechowym a rytmem serca. W nerwie błędnym obserwuje się także aktywność w paśmie LF. Także związek pomiędzy średnimi częstościami obu rytmów (a ściślej rzecz biorąc pomiędzy przepływem w żołądku płucnym a wentylacją) ma charakter homeostatyczny, jest bardzo silny i gwarantuje utrzymanie właściwego poziomu pCO₂ we krwi. Rytm oddechowy wykazuje również zmienność w paśmie LF i VLF, zaś widmo mocy we wszystkich pasmach niskich częstotliwości ma cechy szumu 1/f. Co więcej, także lokalizacja anatomiczna ośrodków AUN mających wpływ na zmienność rytmu serca i rytmu oddechowego pokrywa się [2]. Wszystkie te obserwacje skłaniają do postawienia pytania o to, czy i na ile HRV daje informację niezależną od (trudniejszej do oceny) zmienności rytmu oddechowego i czy można uważać ją za wielkość autonomiczną, czy jedynie za pochodną zmienności rytmu oddechowego. Prezentowane w pracy wyniki dla modelu matematycznego wykazują silną współzależność obu rytmów.

1. Katona PG, Jih F. Respiratory sinus arrhythmia: noninvasive measure of parasympathetic cardiac control. *J Appl Physiol*, 1975; 39: 801–805. 2. Richter DW. Neural regulation of respiration: Rhythmogenesis and afferent control. In: Greger R, Windhorst U eds. *Comprehensive human physiology*. Vol. 2, Springer Verlag, Berlin 1996.

1773

Histological assessment of myocardium and coronary vessels in lethal ethanol intoxication

Paweł Łaskowski¹, Elżbieta Litwiejko-Pietryńczak¹,
Magdalena Szkudlarek¹, Janusz Dziecioł¹,
Anna Niemcunowicz-Janica², Magdalena Okłota²,
Andrzej Namioł¹, Beata Klim¹, Urszula Łapińska³,
Andrzej Szpak³

¹Department of Human Anatomy, Medical University of Białystok, Białystok

²Department of Forensic Medicine, Medical University of Białystok, Białystok

³Department of Public Health, Medical University of Białystok, Białystok

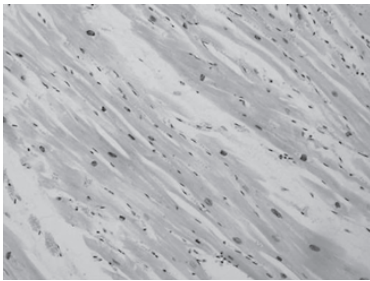


Figure. Hypertrophy of individual cardiomyocytes with significant enlargement of cell nuclei. HE, mag. 200× [1773]

The aim of the study is the histological assessment of myocardium and coronary vessels in lethal ethanol intoxication. The study was based on the histological assessment of specimens of myocardium and coronary vessels taken from 30 deceased males in the 29–45 age range. Autopsies were carried out in the Department of Forensic Medicine of UMB. Material for examination was taken from free wall of left ventricle, myocardium of interventricular septum, and part of myocardium directly after arising of left coronary artery from aorta. Material was fixed in the buffered formalin and embedded in paraffin blocks. After fixation material was stained (H+E) and examined in standard histological procedure. Morphometric examination was carried out in the Department of Human Anatomy of UMB. The results of the examinations revealed: 1) hypertrophy of individual cardiomyocytes with significant enlargement of cell nuclei, 2) separation of particular cardiomyocytes by connective tissue and visible fibroblasts, 3) proliferation of small vessels, 4) distinct perivascular fibrosis.

1775

Morphometric assessment of cardiomyocytes in lethal ethanol intoxication

Beata Klim¹, Elżbieta Litwiejko-Pietrzyńczak¹, Anna Niemcunowicz-Janica², Magdalena Okłota², Magdalena Szkuclarek¹, Justyna Klimek¹, Andrzej Namiot¹, Paweł Łaskowski¹, Janusz Dzieciot¹

¹Department of Human Anatomy, Medical University of Białystok, Białystok

²Department of Forensic Medicine, Medical University of Białystok, Białystok

The reason of sudden cardiac death caused by ethanol intoxication is not entirely explained. Morphologic alterations of the cardiomyocytes may affect the conduction of electrical stimuli, which can result in dangerous arrhythmias and cardiac conduction disturbances. The aim of the study was assessment of the circular deviation (CD), area of the cardiomyocytes and their nuclei and nuclear-cytoplasmic ratio. Examined group consisted of 30 males who died from ethanol intoxication in the 29–45 age range. The concentration of ethanol in the samples of blood

of the analysed cases ranged between 2.5–4.4‰. The control group consisted of 10 male patients who died of the cerebral stroke. Material for examination was taken from free wall of the left ventricle and interventricular septum of the heart, fixed in 10% buffered formalin and embedded in paraffin blocks. The 6 μm sections was routinely HE-stained and examined in standard histological procedure. The morphometric measurements were made only on transverse sections using the morphometric set of Olympus BX41 system Camedia 3030 digital photography and the program Cell-Imaging Software for Life Sciences Microscopy. Differentiation was observed and the shape of the nuclei of cardiomyocytes, increasing their area and decreased nuclear-cytoplasmic ratio. Obtained initial results may indicate the influence of ethanol on the morphology of the cardiomyocytes, which may be manifested clinically as a sustained ventricular tachycardia or ventricular fibrillation resulting in death.

1776

Przebudowa kardiomiocytów, cytoszkieletu komórkowego i macierzy zewnątrzkomórkowej w mysim modelu genetycznie uwarunkowanej kardiomiopatii

Urszula Mackiewicz¹, Elżbieta Czarnowska², Magdalena Brudek², Gabor Csanyi³, Andrzej Fedorowicz³, Elżbieta Grochal³, Urszula Tyrankiewicz⁴, Tomasz Skórka⁴, Bohdan Lewartowski¹, Stefan Chłopicki³

¹Zakład Fizjologii Klinicznej, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa

²Zakład Patologii, Instytut Pomnik — Centrum Zdrowia Dziecka, Warszawa

³Zakład Farmakologii Doświadczalnej, Katedra Farmakologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński, Kraków

⁴Zakład Tomografii Magnetyczno-Rezonansowej, Instytut Fizyki Jądrowej, Polska Akademia Nauk, Kraków

Wstęp: Patologiczna przebudowa serca prowadząca ostatecznie do jego niewydolności zachodzi zarówno na poziomie kardiomiocytów, jak i macierzy zewnątrzkomórkowej. Ostatnio za ważny czynnik prowadzący do rozwoju niewydolności serca uznawane są również zaburzenia transmisji sygnałów pomiędzy macierzą a kardiomiocytami, wynikające ze zmian ekspresji i struktury białek cytoszkieletu komórkowego. Pomimo licznych badań nad patomechanizmami rozwoju niewydolności serca kolejność zmian pojawiających się na poziomie poszczególnych elementów mięśnia sercowego i ich wzajemna zależność nie jest znana. Rozwój niewydolności serca u myszy transgenicznych Tgαq*44 jest następstwem nadekspresji stale aktywnej podjednostki α białka Gq. Naśladuje to przewlekłą stymulację neurohormonalną (prowadzącą do aktywacji białka Gq) odgrywającą kluczową rolę w rozwoju niewydolności serca, zarówno w modelach zwierzęcych, jak i u ludzi. Myszy

Tg α *44 stanowią dogodny model niewydolności serca pozwalający na ustalenie czasowej sekwencji pojawiających się w mięśniu sercowym zmian. Wynika to z faktu, że spadek funkcji lewej komory i objawy niewydolności serca w tym modelu pojawiają się stosunkowo późno (w 12.–14. miesiącu życia).

Metody: U Myszy Tg α *44 w wieku 4, 8, 12 i 14 miesięcy i u równowiekowych myszy szczepu kontrolnego FVB zbadano funkcję skurczową i rozkurczową lewej komory *in vivo* metodą obrazowania rezonansowo-magnetycznego, wymiary i funkcję skurczową kardiomiocytów, wewnątrzkomórkowy obieg Ca²⁺ (amplitudę sygnału Ca²⁺ i funkcję głównych transporterów wapniowych: ATP-azy Ca²⁺ siateczki sarkoplazmatycznej-SERCA i wymiennika Na⁺/Ca²⁺ -NCX) za pomocą sondy fluorescencyjnej INDO-1, stopień zwłóknienia mięśnia sercowego (barwienie Trichromem Massona) oraz ekspresję, lokalizację i strukturę głównego białka cytoszkieletu komórkowego, jakim jest desmina (metodą immunohistochemiczną).

Wyniki: Spadek funkcji skurczowej lewej komory pojawił się w 12. miesiącu życia myszy Tg α *44. W 14. miesiącu obecny był już spadek funkcji skurczowej i rozkurczowej, odpowiednio o 40% i 30%. Mimo to parametry skurczu i rozkurczu izolowanych kardiomiocytów były zachowane nawet u myszy 14-miesięcznych. Amplituda sygnału Ca²⁺ rosła u myszy 12- i 14-miesięcznych, odpowiednio o 33% i 49%. Jest to prawdopodobnie wynik retencji Ca²⁺ w komórce spowodowany spadkiem funkcji transportowej NCX (o 37% u myszy 14-miesięcznych). Funkcja transportowa SERCA była niezmienną. Z kolei u 4-miesięcznych myszy Tg α *44 zwłóknienie było bardzo nasilone (20% v. 5% u myszy kontrolnych) i rosło z wiekiem (30% u myszy 14-miesięcznych). Zawartość desminy była 6-krotnie zwiększona w kardiomiocytach 4-miesięcznych myszy Tg α *44 w porównaniu z równowiekowymi myszami kontrolnymi. Struktura i lokalizacja desminy pomimo ogromnego wzrostu zawartości były u młodych myszy Tg α *44 prawidłowe. Poczynając od 8. miesiąca, zawartość desminy u myszy Tg α *44 sukcesywnie spadała i w wieku 14 miesięcy nie różniła się od jej zawartości u myszy kontrolnych. Rozmieszczenie desminy w kardiomiocytach myszy Tg α *44 po upływie 8 miesięcy życia było wysoce niehomogenne. U najstarszych badanych myszy Tg α *44 ok. 20% kardiomiocytów zawierało śladowe ilości desminy, podczas gdy w pozostałych kardiomiocytach obserwowany był zanik formy filamentowej i pojawienie się formy ziarnistej desminy, co prawdopodobnie uniemożliwia prawidłową transmisję sygnału z kardiomiocytów do macierzy.

Wnioski: U myszy Tg α *44 zmiany zachodzące na poziomie cytoszkieletu komórkowego i macierzy zewnątrzkomórkowej pojawiają się znacznie wcześniej niż te na poziomie białek odpowiedzialnych za aktywację skurczu kardiomiocytów i to one (a w szczególności zmiana struktury i lokalizacji desminy), a nie zaburzenia czynności skurczowej poszczególnych kardiomiocytów, są odpowiedzialne za rozwój niewydolności serca. Zmiany w wewnątrzkomórkowym obiegu Ca²⁺ mają charakter kompensacyjny i prawdopodobnie przyczyniają się do utrzymania funkcji skurczowej kardiomiocytów.

1777

Okołooperacyjna zmienność rytmu serca po pomostowaniu aortalno-wieńcowym a polimorfizm Ser49Gly genu beta-1 adrenoreceptora

Piotr Mazur¹, Ewelina Nowak¹, Łukasz Janik²,
Marcin Waligóra¹, Paweł Koźlik¹, Grzegorz Wasilewski²,
Łukasz Durajski¹, Ewa Stępień², Roman Pfitzner²

¹Studenckie Koło Naukowe Kardiochirurgiczne przy Klinice Chirurgii Serca, Naczyń i Transplantologii, Instytut Kardiologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński, Kraków

²Klinika Chirurgii Serca, Naczyń i Transplantologii, Instytut Kardiologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński, Kraków

Wstęp: Zmienność rytmu serca (HRV) pozwala skwantyfikować odpowiedź serca na impulsację autonomiczną. Choroby układu sercowo-naczyniowego i zabiegi kardiochirurgiczne negatywnie wpływają na autonomiczną regulację pracy serca, skutkując obniżeniem HRV. Podstawą pomiaru HRV jest analiza czasów trwania odcinków R-R w prawidłowym zapisie EKG. Polimorfizm Ser49Gly genu receptora beta-1 adrenergicznego (ADRB1) może wpływać na reaktywność receptora zarówno na agonistów, jak i antagonistów, czego efektem jest wpływ na częstość rytmu serca i ciśnienie tętnicze.

Cel: Celem pracy była weryfikacja wpływu polimorfizmu Ser49Gly genu ADRB1 na odpowiedź serca, wartości parametrów częstotliwościowych HRV po pomostowaniu aortalno-wieńcowym (CABG).

Metody: Do badania włączono 91 osób w średnim wieku 65,6 ± 7,6 roku, zakwalifikowanych do pierwszorazowego planowego CABG. Wykluczono osoby po ostrym zespole wieńcowym w ciągu miesiąca przed włączeniem do badania oraz pacjentów z chorobą organiczną serca (wady zastawkowe, tętniaki), zaburzeniami rytmu i chorych z rozrzuśnikiem. Pomiar HRV wykonano 2-krotnie metodą Short Time Measurement — przed operacją oraz w 6. dobie pooperacyjnej. Po usunięciu artefaktów i ekstrakcji analizy poddano wartości mocy spektrum HRV w zakresie bardzo niskich (VLF, *very low frequency*), niskich (LF, *low frequency*) i wysokich częstotliwości (HF, *high frequency*) oraz współczynnik LF/HF. Próbkę krwi żyłnej (2,6 ml) pobierano po pierwszym pomiarze HRV. Po odwirowaniu kószuszek leukocytny zamrażano w temperaturze –26°C. Genotypowanie polimorfizmu przeprowadzone zostało z użyciem znakowanych fluorescencyjnie sond TaqMan metodami Real time PCR. Wszyscy pacjenci udzielili pisemnej zgody na udział. Badanie zaakceptowała Komisja Bioetyczna Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego.

Wyniki: Wartości VLF, LF i HF spadły po CABG odpowiednio o 47,6%, 71,7% i 47,6% w dobie 6. ($p < 0,0001$). Osoby z cukrzycą miały niższe wartości przedoperacyjne współczynnika LF/HF o 35,7% ($p < 0,025$). Pacjenci z chorobą trójnaczyńową wykazywali niższe wyjściowe wartości w zakresie

LF w porównaniu z pozostałymi osobami ($p < 0,0001$). Dystrybucja genotypów była zgodna z prawem Hardy-Weinberga ($p = 0,24$; $\chi^2 = 2,8$). W porównaniu z homozygotami Ser49Ser, heterozygoty Ser49Gly cechowały się niższymi wartościami wyjściowymi w zakresie LF ($p < 0,025$) oraz większym spadkiem LF po CABG ($p < 0,025$).

Wnioski: Regulacja autonomiczna pracy serca ulega upośledzeniu się po CABG. Bardziej zaawansowana choroba wieńcowa wiąże się z gorszą odpowiedzią serca na stymulację współczulną. Polimorfizm Ser49Gly genu ADRB1 wpływa na odpowiedź serca na okołooperacyjną stymulację współczulną.

1778

Ekspresja genów w świeżym zawale serca

Marek Kiliszek¹, Beata Burzyńska², Marcin Michalak¹,
Monika Góra², Aleksandra Winkler¹, Monika Niewiadomska²,
Katarzyna Rawa², Grzegorz Opolski¹

¹Katedra i Klinika Kardiologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa

²Instytut Biochemii i Biofizyki, Polska Akademia Nauk, Warszawa

Wstęp: Zawały serca, mimo coraz lepszych metod diagnostyki i leczenia, nadal mają duży wpływ na śmiertelność w populacji. W świeżym zawale serca zwiększa się stężenie leukocytów i stanowi to czynnik prognostyczny kolejnych zdarzeń sercowo-naczyniowych. Dokładne poznanie patofizjologii zawału serca przyczyni się do poprawy skuteczności leczenia i prewencji ostrych zespołów wieńcowych.

Cel: Celem pracy było zbadanie ekspresji genetycznej w świeżym zawale serca w leukocytach.

Metody: Do badania włączano pacjentów ze świeżym zawałem serca z uniesieniem odcinka ST, leczonych pierwotną angioplastyką wieńcową. Od wszystkich chorych izolowano RNA z krwi obwodowej w pierwszej dobie zawału (grupa badana), a następnie po 6 miesiącach od zawału (kontrola). Analiza ekspresji genów została wykonana przy użyciu mikromacierzy firmy Affymetrix Human Gene 1.0 ST i systemu GCS3000 TG (Affymetrix, Santa Clara, CA, USA). Analiz funkcjonalnych genów (modelowanie sieci genowych i ścieżek sygnałowych) dokonano za pomocą programu Ingenuity Pathway Analysis (Ingenuity® Systems, www.ingenuity.com).

Wyniki: Do badania włączono 28 pacjentów ze świeżym zawałem serca (średnia wieku $54,8 \pm 10,2$ roku; 7 kobiet (25%)). Wszyscy chorzy zgłosili się na badanie kontrolne po 6 miesiącach. Przyjmując kryteria zmiany ekspresji 1,5-krotnie oraz $p < 0,05$ (1. doba zawału serca v. kontrola po 6 miesiącach) stwierdzono zmianę ekspresji 91 genów, z czego 57 zmapowanych (3 duplikaty, w sumie 54 geny), 34 geny bez anotacji. W analizie funkcjonalnej największa zmiana ekspresji dotyczyła szlaków metabolicznych związanych z PPAR (*peroxisome proliferator-activated receptor*), IL-10, receptorem glukokortykosteroidów,

IL-6 oraz aktywacją LXR/RXR (*liver X receptor/retinoid X receptor*). Największe zmiany ekspresji genetycznej obejmowały geny kodujące następujące białka: SOCS3 (*suppressor of cytokine signaling 3*; $p = 1,60E20$), FAM198B (*family with sequence similarity 198, member B*; $p = 7,00E17$), ST14 (*suppression of tumorigenicity 14*; $p = 1,68E16$), ASGR2 (*asialoglycoprotein receptor 2*; $p = 5,82E16$) oraz AQP9 (*aquaporin 9*; $p = 1,71E15$).

Wnioski: Zawał serca powoduje szereg zmian w ekspresji genów w leukocytach krwi obwodowej. Najbardziej zmienia się ekspresja genów szlaków metabolicznych dotyczących PPAR, interleukiny 10 i 6 oraz receptora glikokortykosteroidów i LXR/RXR.

1779

Ocena farmakokinetyki i efektów tkankowych uwolnionego paklitakselu z cewnika balonowego w ścianie naczynia na modelu hiperplazji neointymy tętnic wieńcowych i obwodowych świni domowej

Piotr P. Buszman, Krzysztof Milewski, Michał Jelonek,
Wanda Jackiewicz, Wojciech Wojakowski, Paweł E. Buszman

Centrum Badawczo Rozwojowe, Polsko-Amerykańskie Kliniki Serca, Ustroń

Wstęp: Jednym z osiągnięć ostatnich lat kardiologii interwencyjnej jest wprowadzenie balonów powlekanych lekami (DEB), które udowodniły swoją wyższość w leczeniu restenozy w porównaniu z balonami niepowlekanyymi i stentami elutującymi lek (DES). Szeroko przyjętym modelem eksperymentalnym potwierdzającym bezpieczeństwo i skuteczność DEB jest badanie farmakokinetyczne i efektów tkankowych na modelu tętnic wieńcowych świni domowej.

Metody: Do badania włączono 11 świń domowych. W pierwszym etapie badania farmakokinetyki przenikania paklitakselu do światła naczynia u 4 zwierząt wykonano po trzy angioplastyki badanymi cewnikami pokrytymi paklitakselem w stężeniu $2 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ (Pax, Balton®) w każdej tętnicy wieńcowej i biodrowej. Eutanazję wykonano po 1, 24 i 72 godzinach oraz po 1 tygodniu, po jednym zwierzęciu na badany punkt czasowy. Badane segmenty tętnic zostały wypreparowane i podane analizie wysokosprawną chromatografią ciecząwą celem oznaczenia stężenia śródstęnnego i pozostałego na balonie paklitakselu. W drugim etapie do badania włączono 7 świń celem oceny efektów tkankowych badanych DEB. U każdego ze zwierząt dokonano implantacji stentów do trzech tętnic wieńcowych techniką nadmiernego rozprężenia celem uszkodzenia i indukcji proliferacji neointymy. Następnie po randomizacji wykonano postdylatację cewnikiem badanym (Pax), referencyjnym (Sequent Please, Braun®) oraz balonem niepowlekany. Po 28 dniach wykonano ilościową koronarografię (QCA), badanie ultrasonografii wewnątrznaczyniowej oraz ocenę histopatologiczną badanych stentów.

Wyniki: W pierwszym etapie badania uzyskano następujące stężenia paklitakselu w ścianie naczyń tętnic wieńcowych: $10,94 \pm 3,3 \mu\text{g/g}$ po jednej godzinie obserwacji; $0,40 \mu\text{g/g}$ po 24 godzinach; $0,20 \pm 0,1 \mu\text{g/g}$ po 72 godzinach oraz $0,05 \pm 0,1 \mu\text{g/g}$ po 7 dniach. Na balonach pozostało 12% dawki wyjściowej leku. W ścianie tętnic biodrowych dla powyższych długości obserwacji oznaczono następujące stężenia leku: $154,5 \pm 152,9 \mu\text{g/g}$; $3,0 \pm 1,5 \mu\text{g/g}$; $3,0 \pm 1,5 \mu\text{g/g}$; $3,0 \pm 1,5 \mu\text{g/g}$. Na balonach biodrowych pozostało 29% początkowej dawki leku. Badanie efektów tkankowych jest w trakcie, wyniki zostaną opublikowane podczas prezentacji.

Wnioski: Badane cewniki balonowe zapewniły dostarczenie paklitakselu do ściany w niskim stężeniu, utrzymującym się aż do 7. dnia obserwacji. Badanie efektów tkankowych rozstrzygnie, czy dostarczony lek zahamuje przerost neointymy.

1780

Modyfikacja genetyczna ludzkich macierzystych komórek mięśniowych proangiogenym genem endotelialnej syntazy tlenu azotu

Agnieszka Janeczek¹, Agnieszka Zimna¹, Monika Frączek¹, Monika Seidel¹, Marek Ruciński², Tomasz Miętkiewski², Maciej Kurpisz¹

¹Instytut Genetyki Człowieka, Polska Akademia Nauk, Poznań

²Oddział Ortopedii i Chirurgii Urazowej Narządu Ruchu, Szpital Wojewódzki, Poznań

Komórki macierzyste mięśnia szkieletowego od lat badane są pod względem przydatności w regeneracji pozawałowego miokardium. Zastosowanie ich w terapii miałooby na celu wypełnienie zwłóknionego obszaru blizny pozawałowej komórkami mięśniowymi zdolnymi do skurczu, wykazującymi się wytrzymałością na warunki niedotlenienia. Kolejnym podejściem do terapii uszkodzonego mięśnia sercowego jest dążenie do zwiększenia ukrwienia wcześniej wspomnianej blizny pozawałowej, poprzez wytworzenie nowych naczyń krwionośnych w jej obrębie. Łatwość pozyskania mioblastów i ich modyfikacji genetycznej to kolejne czynniki przemawiające za ich wykorzystaniem, dzięki którym możliwe staje się osiągnięcie obu wyżej wymienionych celów. W przypadku terapii komórkowej mioblastami wykazującymi nadekspresję eNOS (endotelialnej syntazy tlenu azotu), proces angiogenezy może być indukowany pośrednio dzięki produktowi tego enzymu, który wpływa na wzrost syntezy czynnika wzrostu śródbłonna naczyniowego (VEGF). Tlenek azotu (NO), o którym mowa, charakteryzuje się szerokim zasięgiem działań fizjologicznych, między innymi wpływa również na rozszerzenie naczyń krwionośnych, stymuluje rozwój śródbłonna i uniemożliwia adhezję leukocytów do niego oraz zapobiega agregacji płytek krwi. Celem pracy było uzyskanie populacji ludzkich mioblastów transfekowa-

nych przejściowo konstrukcją genową zawierającą ORF dla proangiogenego genu eNOS oraz ocena wpływu tej modyfikacji genetycznej na podstawowe procesy komórkowe w warunkach *in vitro*. Skuteczność modyfikacji określono na poziomie transkrypty i białka, oceniając jednocześnie jego funkcjonalność. Ponadto zbadano wpływ transfekcji na proliferację komórek oraz cykl komórkowy, jak również oceniono ekspresję czynników transkrypcyjnych szlaku miogenego. Określono też wpływ nadekspresji badanego enzymu na proces apoptozy oraz nekrozy w warunkach stresu oksydacyjnego. Uzyskane wyniki sugerują, że transplantacja mioblastów z wymuszoną ekspresją eNOS może zostać wykorzystana w przyszłości w próbie regeneracji pozawałowego mięśnia sercowego, stanowiąc podstawę dla badań przedklinicznych przeprowadzanych na mysim modelu zawału.

1781

Obserwacja zmian architektury jądrowej podczas procesu różnicowania ludzkich mioblastów w hodowli *in vitro*

Tomasz Kolanowski, Natalia Rozwadowska, Ewa Wiland, Michał Lach, Marta Olszewska, Maciej Kurpisz

Zakład Biologii Rozrodu i Komórek Macierzystych, Instytut Genetyki Człowieka, Polska Akademia Nauk, Poznań

Przez ostatnią dekadę mioblasty mięśni szkieletowych były szeroko wykorzystywane w badaniach klinicznych nad regeneracją pozawałowego miokardium. Niestety, mimo początkowych, obiecujących wyników, nie spełniły one pokładanych w nich oczekiwań. Analiza właściwości tych komórek wykazała brak sprzężenia elektrofizjologicznego między przeszczepianymi mioblastami a kardiomiocytami obecnymi *in situ*. Z tego powodu, mimo wielu pożądanых cech mioblastów (np. zdolność do skurczu bądź oporność na warunki hipoksji), istnieje potrzeba dokładnego scharakteryzowania subpopulacji mioblastów oraz czynników transkrypcyjnych, których odpowiednia, sekwencyjna obecność może mieć wpływ na ich późniejsze właściwości. Niestety, dotychczas nie poznano markerów umożliwiających dywersyfikację wspomnianych subpopulacji, jednak dokładne dane dotyczące czasu ekspresji odpowiednich czynników transkrypcyjnych wraz z obserwacją aktywacji regionów chromosomów oraz scharakteryzowaniem zmian terytoriów chromosomowych powinny umożliwić wspomniane zadanie. Ponadto ogólnodostępna literatura podaje niewiele danych na temat architektury chromosomowej ludzkich mioblastów oraz jej zmian podczas procesu różnicowania. Zamierzeniem przedstawianego projektu była ocena zmian topologii wyselekcjonowanych telomerów podczas hodowli *in vitro* oraz różnicowania ludzkich komórek macierzystych mięśni szkieletowych. Chromosomy poddawane badaniu wybrano na podstawie lokalizacji genomowej genów kodujących czynniki trans-

krypcyjne znaczące dla procesów utrzymania potencjału rozwojowego mioblastów lub ich różnicowania. Analizę przeprowadzono poprzez wykonanie dwu- bądź trójwymiarowej hybrydyzacji *in situ* (FISH) z późniejszą analizą komputerową uzyskanych obrazów. W celu klasyfikacji jądra podzielono na 5 regionów, bazując na odległości sygnałów od punktu centralnego. Jak dotąd przeprowadzono analizę centromerów chromosomów 1, 7, 11, 12, 16 i 17 w dwóch punktach czasowych — tuż po izolacji oraz po zróżnicowaniu *in vitro* komórek w miotuby. Zmiany zaobserwowano w centromerach chromosomów 1, 11 i 12, co warte uwagi — we wszystkich przypadkach był to ruch w stronę peryferyjną. Podsumowując, wykonano pierwszy krok w kierunku zbadania zmian terytoriów chromosomowych podczas procesu różnicowania w ludzkich komórkach macierzystych mięśni szkieletowych. Niestety jednak zanim obserwowane zmiany zostaną dokładnie scharakteryzowane, należy wykonać analizę 3D FISH. Kolejnym krokiem będzie ocena modyfikacji terytoriów wybranych chromosomów z wykorzystaniem techniki malowania chromosomów. Ponadto przewiduje się śledzenie zmian lokalizacji jądrowej wybranych genów poprzez specyficzne sondy fluorescencyjne, umożliwiając porównanie danych molekularnych i cytogenetycznych oraz prawdopodobnie ustalenie wniosków końcowych badania.

1782

Wpływ wysiłku fizycznego na aktywność N-metylotransferazy nikotynamidu (NNMT) i wytwarzanie endogennego 1-metylonikotynamidu (MNA) u myszy — rola IL-6

Marta Kurdziel¹, Magdalena Sternak², Małgorzata Szafarz³, Joanna Szymura-Oleksiak³, Karol Kamiński⁴, Jerzy A. Żołądź¹, Stefan Chłopicki²

¹Zakład Fizjologii Mięśni, Katedra Fizjologii i Biochemii, Akademia Wychowania Fizycznego, Kraków

²Zakład Farmakologii Doświadczalnej, *Collegium Medicum*, Uniwersytet Jagielloński, Kraków

³Zakład Farmakokinetyki i Farmacji Fizycznej, *Collegium Medicum*, Uniwersytet Jagielloński, Kraków

⁴Klinika Kardiologii, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, Białystok

Wstęp: 1-metylonikotynamid (MNA), główny produkt reakcji metylacji katalizowanej przez NNMT, stanowi aktywny biologicznie metabolit posiadający właściwości naczynioprotekcyjne. Jednak mechanizm regulacji aktywności szlaku NNMT-MNA do tej pory nie został dobrze poznany.

Cel: Celem przedstawionej pracy była analiza udziału IL-6 w aktywacji szlaku NNMT-MNA podczas krótkotrwałego wysiłku fizycznego myszy.

Metody: Myszy FVB, C57Bl/6J IL6^{+/+} i C57Bl/6J IL6^{-/-} poddano próbie wytrzymałościowej polegającej na pływaniu przez

okres 90 minut. Następnie analizowano wywołane wysiłkiem fizycznym zmiany aktywności NNMT w wątrobie oraz zmiany stężenia MNA i jego metabolitów w osoczu.

Wyniki: W badaniach wykazano, że u dwóch szczepów myszy (FVB oraz C57Bl/6J IL6^{+/+}) poddanych wysiłkowi pływania przez 90 minut, 2–3-krotnie wzrosła aktywność NNMT (odpowiednio od 0,14 ± 0,03 do 0,421 ± 0,02 pmol/min/mg; p < 0,05 oraz od 0,2 ± 0,06 do 0,35 ± 0,07 pmol/min/mg; p < 0,01 dla FVB i C57Bl/6J IL6^{+/+}), a także nastąpił wzrost stężenia MNA w osoczu (odpowiednio od 157 ± 15,06 do 230 ± 16,2 ng/ml; p < 0,01 oraz od 77,05 ± 14,6 ng/ml do 152,55 ± 58,4 ng/ml; p < 0,01 dla FVB i C57Bl/6J IL6^{+/+}). Natomiast u myszy C57Bl/6J IL6^{-/-} po 90-minutowym czasie pływania nie zaobserwowano żadnych zmian w aktywności NNMT w wątrobie (od 0,25 ± 0,07 do 0,23 ± 0,06 pmol/min/mg), podczas gdy stężenie MNA w osoczu wzrosło prawie dwukrotnie (od 65,3 ± 30,9 ng/ml do 124,8 ± 35,8 ng/ml; p < 0,05).

Wnioski: Podsumowując, w przedstawionej pracy po raz pierwszy wykazano, że szlak NNMT-MNA jest aktywowany przez wysiłek fizyczny. Co więcej, wykazano, że za aktywację szlaku NNMT-MNA w wątrobie wywołaną przez wysiłek fizyczny odpowiada IL-6, podczas gdy wzrost stężenia MNA w osoczu jest częściowo niezależny od IL-6. Biorąc pod uwagę farmakologiczne właściwości MNA, można przypuszczać, że szlaki aktywacji NNMT, zarówno zależne od IL-6 (w wątrobie), jak i od niej niezależne (w innych tkankach) mogą mieć znaczenie w regulacji wydolności wysiłkowej.

1783

Zaburzenia czynności rozkurczowej mięśnia sercowego w mysim modelu kardiomiopatii rozstrzeniowej (myszy Tgαq*44) oraz miażdżycy (myszy ApoE/LDLR^{-/-})

Urszula Tyrankiewicz¹, Tomasz Skórka¹, Magdalena Jabłońska^{1, 2}, Stefan Chłopicki^{3, 4}

¹Instytut Fizyki Jądrowej im. Henryka Niewodniczańskiego, Polska Akademia Nauk, Zakład Tomografii Magnetyczno-Rezonansowej, Kraków

²Wydział Fizyki i Informatyki Stosowanej, Katedra Fizyki Medycznej i Biofizyki, Akademia Górniczo-Hutnicza, Kraków

³Zakład Farmakologii Doświadczalnej, *Collegium Medicum*, Uniwersytet Jagielloński, Kraków

⁴Jagiellonian Centre for Experimental Therapeutics (JCET), Uniwersytet Jagielloński, Kraków

Wstęp: Zaburzenia czynności skurczowo-rozkurczowej serca mogą być uwidaczniane na wczesnych etapach dysfunkcji, nie tyle w warunkach spoczynkowych, co za pomocą stymulacji beta-adrenergicznej (np. z wykorzystaniem dobutaminy).

Cel: Celem pracy była ocena zmian poszczególnych parametrów charakteryzujących czynność skurczową i rozkurczową lewej komory w przebiegu niewydolności serca w mysim mo-

delu kardiomiopatii rozstrzeniowej (myszy Tg α q*44) oraz choroby niedokrwiennej serca (myszy ApoE/LDLR $-/-$) z wykorzystaniem testu dobutaminowego w niskiej i wysokiej dawce.

Metody: Do badań wykorzystano (1) myszy Tg α q*44 (rozwijające stopniowo kardiomiopatię rozstrzeniową) w czterech punktach czasowych odpowiadających różnym etapom zmian czynnościowych lewej komory oraz (2) myszy ApoE/LDLR $-/-$ na stosunkowo wczesnym oraz zaawansowanym etapie choroby niedokrwiennej serca. Czynność lewej komory mierzono za pomocą obrazowania magnetyczno-rezonansowego, w anestezji izofluranowej, w osi krótkiej lewej komory, na poziomie mięśni brodawkowatych (grubość warstwy: 1,5 mm). Oceniano: powierzchnię końcowoskurczową/rozkurczową, dynamikę skurczu/rozkurczu, powierzchniową frakcję wyrzutową, warstwowy rzut i objętość wyrzutową oraz cykl serca. Badanie wykonano w warunkach spoczynkowych oraz po stymulacji beta-adrenergicznej (dobutaminą w dawkach: 0,5 i 5 mg/kg, *i.p.*).

Wyniki: Uzyskane wyniki potwierdziły wczesne upośledzenie czynności lewej komory serca u myszy Tg α q*44 już w wieku 4 miesięcy (jako mniejszą powierzchniową frakcję/objętość wyrzutową i zmniejszony rzut serca oraz nieznaczne zmiany w dynamice fazy wczesnorozkurczowej, przy stałej zachowanej rezerwie we wszystkich badanych parametrach). Zarówno u myszy Tg α q*44 w wieku 8 miesięcy, jak i u myszy ApoE/LDLR $-/-$ na wczesnym etapie choroby niedokrwiennej

zaobserwowano brak rezerwy rzutu serca przy stałej zachowanej rezerwie kurczliwości (powierzchniowej frakcji wyrzutowej), sugerujące wpływ zmian relaksacji serca na globalną funkcję lewej komory. Istotny spadek warstwowej objętości wyrzutowej i rzutu serca w grupie myszy Tg α q*44 w wieku 12 miesięcy przy jednoczesnym braku rezerwy powierzchniowej frakcji wyrzutowej wskazują na współistniejące i dominujące zaburzenia funkcji skurczowej serca. Na zaawansowanym etapie niewydolności serca w grupie myszy ApoE/LDLR $-/-$ oraz Tg α q*44 (w wieku 16–18 miesięcy), czynność lewej komory znacznie wzrosła po stymulacji dobutaminą w niskiej dawce (pomimo istotnie obniżonych wartości spoczynkowych) i spadła w odpowiedzi na wysoką dawkę, sugerując istotne upośledzenie perfuzji serca.

Wnioski: W obu badanych modelach wczesne oznaki niewydolności serca uwiadczniane są jedynie w warunkach stymulacji beta-adrenergicznej i wyprzedzają upośledzenie rezerwy inotropowej, co sugeruje wpływ dysfunkcji rozkurczu na wczesne zaburzenia globalnej czynności serca.

Praca współfinansowana ze środków Unii Europejskiej w ramach Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego (projekt nr WND-POIG.01.01.02-00-069/09-00 koordynowany przez Jagiellońskie Centrum Rozwoju Leków — Jagiellonian Centre for Experimental Therapeutics: JCET).

Indeks autorów streszczeń

Bachowski Ryszard	128	Klimek Justyna	136	Pfitzner Roman	137
Baj Zbigniew	131	Knapp Anna	125	Pieśniewska Małgorzata	123, 132
Bereświcz Andrzej	121	Kolanowski Tomasz	139	Pietrucha Artur	117
Białka Szymon	117	Kolsut Piotr	133	Piotrowski Walerian	133
Biezuńska-Kusiak Katarzyna	120	Konduracka Ewa	117	Polus Anna	125
Bissinger Andrzej	131	Konior Anna	121	Puchalska Liana	122
Bonda Tomasz	132, 133	Konovalova Tatiana	125	Ratajczak Mariusz	128, 129
Brudek Magdalena	136	Kopacz Maria	123	Ratajska Anna	118, 119
Brzoska Kamil	133	Korbut Ryszard	117, 122, 123	Rawa Katarzyna	138
Buchner Teodor	135	Korybalska Katarzyna	122	Raźny Urszula	125
Buczko Włodzimierz	118	Kotowski Maciej	129	Rechciński Tomasz	127, 129
Bujak-Gizycka Beata	122	Kowalewski Stanisław	122	Rostow Paweł	117
Burchardt Paweł	127	Kowalówka Adam	128	Rózański Jacek	133
Burzyńska Beata	138	Koźlik Paweł	137	Rozwadowska Natalia	139
Buszman Paweł E.	138	Kramkowski Karol	118	Ruciński Marek	139
Buszman Piotr P.	138	Kruszewski Marcin	133	Rudnicka Wiesława	127
Chlebda Ewa	123, 132	Krzemiński Tadeusz F.	117	Rywik Tomasz	133
Chłopicki Stefan	136, 140	Kubacki Tomasz	127	Saczko Jolanta	120
Chmiela Magdalena	127, 129	Kucia Magda	129	Sadowski Jerzy	128, 130, 131
Choromańska Anna	120	Kulbacka Julita	120	Schmitz Gerd	125
Chwilkowska Agnieszka	120	Kurdziel Marta	140	Seidel Monika	139
Ciesielczyk Katarzyna	126	Kurpesa Małgorzata	127, 129	Sekula Małgorzata	131
Cieślik Grażyna	117	Kurpisz Maciej	139	Sigruener Alexander	125
Cieslik-Guerra Urszula	129	Kustrzycki Wojciech	120	Skolucka Nina	120
Csanyi Gabor	136	Kuś Katarzyna	117	Skórka Tomasz	136, 140
Cudnoch-Jędrzejewska Agnieszka	120	Kuśnierz-Cabala Beata	124	Smorąg Ireneusz	131
Czarnowska Elżbieta	136	Kuźniar Anna	123	Sochanowicz Barbara	133
Czech Urszula	125	Kuźniewski Marek	124	Solnica Bogdan	124
Danko Bożena	133	Lach Michał	139	Sozański Tomasz	123, 132
Deja Marek	134	Lange Dariusz	117	Stachowicz Aneta	122
Dembińska-Kieć Aldona	125	Leszczyńska Agnieszka	118	Stankiewicz Elżbieta	131
Dmitruk Iwona	132	Leszek Przemysław	133	Sternak Magdalena	140
Dobrzyń Agnieszka	134	Lewartowski Bohdan	136	Stępień Ewa	131, 137
Dobrzyń Paweł	134	Liebisch Gerhard	125	Strapagiel Dominik	129
Drukala Justyna	128	Litwiejko-Pietryńczak Elżbieta	135, 136	Sulowicz Władysław	124
Duda Monika	134	Lubiński Andrzej	131	Suski Maciej	122
Dulak Józef	128	Łapińska Urszula	135	Syzdół Marcin	128
Dumański Andrzej	120	Łaskowski Paweł	135, 136	Szafarz Małgorzata	140
Dumnicka Paulina	124	Machaliński Bogusław	129	Szczepańska-Sadowska Ewa	120, 122
Durajski Łukasz	137	Machowska Anna	126	Szeląg Adam	123, 132
Dworowy Sebastian	129	Mackiewicz Urszula	134, 136	Szkudlarek Magdalena	135, 136
Dziemidowicz Magdalena	132, 133	Madej Maria	118, 119	Szmigiel Joanna	126
Dzięcioł Janusz	135, 136	Magdalan Jan	123	Szpak Andrzej	135
Fedak Danuta	124	Makowski Marcin	131	Szperl Małgorzata	133
Fedorowicz Andrzej	136	Malinowski Krzysztof	130	Szymańska Karolina	131
Fereniec-Gołębiowska Lidia	123, 132	Malinowski Marcin	134	Szymura-Oleksiak Joanna	140
Flaht Aleksandra	118, 119	Małecki Maciej	117	Śliwa Agnieszka	125
Frączek Monika	139	Masiarek Konrad	131	Taranta Andrzej	133
Furgała Agata	126	Matusiak Agnieszka	127, 129	Tendera Michał	128, 129
Galicka-Latała Danuta	117	Mazur Piotr	137	Thor Piotr	126
Gofba Krzysztof	134	Mączewski Michał	134	Trocha Małgorzata	123, 132
Góra Monika	138	Merwid-Łąd Anna	123, 132	Trzeciak Bartosz	130
Górska Joanna	125	Michalak Marcin	138	Trzos Ewa	129
Grochal Elżbieta	136	Miękiewski Tomasz	139	Tyrankiewicz Urszula	136, 140
Gruca Anna	125	Milewski Krzysztof	138	Undas Anetta	128, 130
Grudzień Grzegorz	128, 130, 131	Milik Elwira	120	Uznańska Barbara	129
Grycewicz Tomasz	131	Mitręga Katarzyna	117	Varghese Benoy	117
Gutknecht Piotr	130	Mogielnicki Andrzej	118	Waligóra Marcin	137
Hermanowicz Justyna Magdalena	118	Molisz Andrzej	130	Wasilewski Grzegorz	137
Hirnle Tomasz	132	Musiał Włodzimierz	133	Wierzbza Tomasz	130
Jabłońska Magdalena	140	Nabiałek Edyta	129	Wiland Ewa	139
Jackiewicz Wanda	138	Namiot Andrzej	135, 136	Winkler Aleksandra	138
Janeczek Agnieszka	139	Natorska Joanna	128, 130	Winnicka Maria M.	132, 133
Janik Łukasz	137	Nessler Jadwiga	117	Witowski Janusz	122
Jankowska Ewa	119	Niemcunowicz-Janica Anna	135, 136	Wojakowski Wojciech	128, 129, 138
Jawień Jacek	117	Niepsuj Anna	123	Woś Stanisław	128, 134
Jelonek Michał	138	Niewiadomska Monika	138	Wsół Agnieszka	122
Kamiński Karol	132, 133, 140	Nowak Ewelina	137	Wypasek Ewa	130
Kapusta Maria	124	Nowicki Rafał	120	Wysocki Henryk	127
Kasprzak Jarosław D.	127, 129	Nożyński Jerzy	117	Zimna Agnieszka	139
Kawka Edyta	122	Oklota Magdalena	135, 136	Zuba-Surma Ewa	128, 129
Kaźmierski Maciej	129	Olszanecki Rafał	122, 123	Żebrowski Jan J.	126
Kieć-Wilk Beata	125	Olszewska Marta	139	Żmudka Krzysztof	131
Kiliszek Marek	138	Opolski Grzegorz	138	Żołądź Jerzy A.	140
Klemenska Emilia	121	Pasowicz Mieczysław	131	Żorniak Michał	117
Klim Beata	135, 136	Petelczyc Monika	126	Żurawski Jakub	127