

# **STRESZCZENIA**

**XV SYMPOZJUM  
SEKCJI KARDIOLOGII EKSPERYMENTALNEJ  
POLSKIEGO TOWARZYSTWA KARDIOLOGICZNEGO**

961

### Wpływ metabolitów furnidypiny na parametry hemodynamiczne oraz komorowe zaburzenia rytmu u szczurów *in vivo*

Katarzyna Mitrega, Michał Żońiak, Benoy Varghese, Szymon Białka, Maurycy Porc, Tadeusz F. Krzemiński

Katedra i Zakład Farmakologii, Śląski Uniwersytet Medyczny, Zabrze

**Wstęp:** Ciężkie, komorowe zaburzenia rytmu, takie jak częstoskurcz komorowy (VT) lub migotanie komór (VF), towarzyszą wielu organicznym chorobom serca, w tym chorobie niedokrwiennej. Udowodniono, że pochodne dihydropirydyny mogą również chronić przed wystąpieniem arytmii komorowych.

**Metody:** W naszych badaniach porównaliśmy wpływ trzech metabolitów jednej z dihydropirydyn — furnidypiny: M-2, M-3 i M-8. Doświadczenia przeprowadzono w modelu arytmii reperfuzyjnych (7 min zamknięcia LAD, następnie 15 min reperfuzji) u szczurów Sprague-Dawley, porównując częstość występowania i czas trwania arytmii komorowych (VT, VF), śmiertelność zwierząt i parametry hemodynamiczne: ciśnienie skurczowe (BPs), rozkurczowe i średnie oraz częstość akcji serca, pośredni wskaźnik zużycia tlenu, stężenie aminotransferazy asparaginianowej (AspAT) i stężenie kinazy kreatyninowej (CK) w surowicy.

**Wyniki:** Podanie M-2 i M-3 znacząco redukowało śmiertelność zwierząt. Jedynie podanie M-3 całkowicie zapobiegało występowaniu VF, ponadto skracało czas trwania VT, a także obniżało stężenie AspAT w surowicy. Kolejne dwa badane metabolity powodowały również znacząco rzadsze występowanie VF, jak i skrócenie czasu trwania tej arytmii. Nie stwierdzono znaczących różnic w stężeniu CK w surowicy po podaniu żadnego z metabolitów.

**Wnioski:** Spośród metabolitów furnidypiny M-3 posiada najsilniej zaznaczone, korzystne działanie kardioprotekcyjne i antyarytmiczne w badanym modelu doświadczalnym.

962

### The *in vivo* comparison of antithrombotic and haemodynamic properties of two carbon monoxide releasing molecules: CORM-3 and CORM-A1

Karol Kramkowski<sup>1</sup>, Andrzej Mogielnicki<sup>1</sup>, Agnieszka Leszczyńska<sup>1</sup>, Roberto Motterlini<sup>2</sup>, Stefan Chłopicki<sup>3</sup>, Włodzimierz Buczek<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Zakład Farmakodynamiki, Uniwersytet Medyczny, Białystok

<sup>2</sup>Department of Drug Discovery and Development, Italian Institute of Technology, Genova

<sup>3</sup>Zakład Farmakologii Eksperymentalnej, Katedra Farmakologii, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, Kraków

**Background:** Modification of HO-1 expression (CO-generating enzyme) affects thrombosis induced in rodents (Circ Res, 2007). A new, water-soluble CORM-3 synthesized by Motterlini et al. (Circ Res, 2002) inhibits platelet aggregation *in vitro*, due to released CO (Cardiovasc Res, 2006). CORM-A1 is a new substance, which does not contain transition metal (sodium boranocarbonate) and under physiological conditions liberates CO at a much slower rate than CORM-3 (Biochem Soc Trans, 2007).

**Aim and methods:** Aim of the study was to compare the *in vivo* effects of CORM-3 and CORM-A1 on the base of: (1) antithrombotic properties of administered intravenously CORMs in model of the electrically-stimulated arterial thrombosis in rat and (2) mean blood pressure changes (MBP) measured directly in left carotid artery. Additionally we determined the effect of CORMs on: collagen-induced (5  $\mu$ L) platelet aggregation estimated in whole blood and blood count cell parameters.

**Results:** CORMs decreased thrombus weight and platelet aggregation. The highest dose of CORM-3 significantly increased MBP, while CORM-A1 did not (Table 1). CORMs did not changed blood cell count parameters (data not shown). We have also examined inactivated CORMs (i-CORM-3 and i-CORM-A1) to check the effects of a compound depleted of CO, but we did not observed statistical differences in comparison to control (data not shown).

**Table 1.** Effects of CORM-3 and CORM-A1 on arterial thrombosis, MBP and platelet aggregation

	VEH	CORM-3 10 $\mu$ mol/kg	CORM-3 30 $\mu$ mol/kg	CORM-3 100 $\mu$ mol/kg	CORM-A1 3 $\mu$ mol/kg	CORM-A1 10 $\mu$ mol/kg	CORM-A1 30 $\mu$ mol/kg	CORM-A1 100 $\mu$ mol/kg
Thrombus weight [mg]	0.81 $\pm$ 0.02	0.79 $\pm$ 0.05	0.70 $\pm$ 0.04*	0.55 $\pm$ 0.03***	0.79 $\pm$ 0.02	0.69 $\pm$ 0.07*	0.62 $\pm$ 0.03***	–
Platelet aggregation [% of control response]	100 $\pm$ 5.42	–	98.39 $\pm$ 8.91	–17.89 $\pm$ 3.52***	97.29 $\pm$ 25.77	75.61 $\pm$ 8.13**	58.0 $\pm$ 11.2***	–
$\Delta$ MBP in 40 <sup>th</sup> minute	–2.6 $\pm$ 5.17	–2.15 $\pm$ 7.97	12.57 $\pm$ 8.44	17.17 $\pm$ 2.74*	–	–11.61 $\pm$ 4.71	–	–9.36 $\pm$ 9.17

\* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ ; \*\*\* $p < 0.001$  v. control animals

**Conclusions:** In conclusion, we have shown for the first time *in vivo* that CORMs inhibit platelets and possess antithrombotic activity. However CORM-A1, in contrast to CORM-3 inhibited thrombosis in lower doses without altering MBP.

965

### Współzastosowanie hartowania przez niedotlenienie i modyfikowanej reoksygenacji hamuje ich indywidualny efekt ochronny na czynność ludzkiego mięśnia sercowego w warunkach *in vitro*

Tomasz Roleder<sup>1</sup>, Krzysztof Gołba<sup>2</sup>, Marek Deja<sup>3</sup>,  
Marcin Malinowski<sup>3</sup>, Jolanta Biernat<sup>2</sup>, Grzegorz Smolka<sup>1</sup>,  
Stanisław Woś<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Oddział Ostkich Zespołów Wieńcowych, Górnośląskie Centrum Medyczne w Katowicach-Ochojcu, Katowice

<sup>2</sup>Katedra i Klinika Kardiologii, WOK, Śląski Uniwersytet Medyczny, Katowice

<sup>3</sup>II Oddział Kardiologii, Górnośląskie Centrum Medyczne w Katowicach-Ochojcu, Katowice

**Wstęp:** Krótkotrwałe niedokrwienie mięśnia sercowego przed zamknięciem (hartowanie przez niedokrwienie) lub po otwarciu (modyfikowana reperfuzja) tętnicy dozawałowej to dobrze znane endogenne mechanizmy ochrony miokardium przed skutkami uszkodzeniem niedokrwienno-reperfuzyjnego. Tematem licznych kontrowersji pozostaje jednak ich wzajemna interakcja.

**Cel:** Celem pracy była ocena jednoczesnego zastosowania protokołu symulowanego hartowania przez niedotlenienie i modyfikowanej reoksygenacji na czynność niedotlenionych fragmentów ludzkiego mięśnia sercowego w warunkach *in vitro*.

**Metody:** Beleczki mięśniowe uzyskane z fragmentów ludzkiego uszka prawego przedsionka serca pobranych od pacjentów poddanych pomostowaniu naczyń wieńcowych inkubowano i stymulowano prądem polowym w kąpielii tkankowej. Każdorazowo beleczkę mięśniową poddano 60-min niedotlenieniu z następczą 60-min reoksygenacją. Wyjątek stanowiły beleczki inkubowane jedynie w stałych warunkach tlenowych (Sham). W protokole HPN (hartowanie przez niedotlenienie) beleczkę poddano 5-min niedotlenieniu z następczą 5-min reoksygenacją przed 60-min niedotlenieniem. Z kolei w protokole MR (modyfikowana reoksygenacja) po 60-min niedotlenieniu beleczkę poddano 3-krotnie powtórzonemu 1-min niedotlenieniu z następczą 1-min reoksygenacją. W ostatnim doświadczeniu protokół HPN i MR zastosowano jednocześnie, odpowiednio przed i po 60-min niedotlenieniu beleczki mięśniowej (HPN+MR). Każdy eksperyment kończono podaniem

norepinefryny. Kontrolę stanowiła mięśniówka poddana jedynie 60-min okresowi niedotlenienia. Oceniano parametry czynności skurczowej (Amax) i rozkurczowej (Slope T) przed 60-min okresem niedotlenienia w okresie reoksygenacji i po podaniu norepinefryny.

**Wyniki:** Oceniane parametry czynności mięśnia sercowego w protokole HPN+MR były niższe dla protokołu Sham, kontrolnego, HPN i MR w okresie reoksygenacji; Amax%: Sham = 53,40±2,4\*; Kontrola = 38,59±1,3; HPN = 47,42±2,2\*; MR = 51,5±2,2\*; HPN+MR = 30,3±2,5\*; SlopeT%: Sham = 52,49 ± 2,8; Kontrola = 35,29 ± 1,5; HPN = 44,06 ± 2,5\*; MR = 52,11 ± 2,4\*; HPN+MR = 30,4±3,2 i po podaniu norepinefryny; Amax%: Sham = 162,4 ± 15,2\*; Kontrola = 59,57 ± 4,58; HPN = 63,45 ± 7,4; MR = 86,32 ± 8,5\*; HPN+MR = 56,26 ± 5,3; SlopeT%: Sham = 193,18 ± 17,7\*; Kontrola = 69,28 ± 6,1; HPN = 70,60 ± 11,0; MR = 90,86 ± 6,1\*; HPN+MR = 61,76 ± 11,6; \*p < 0,05 v. Kontrola.

**Wnioski:** Współzastosowanie HPN i MR hamuje ich indywidualny wpływ ochronny na czynność niedotlenionych fragmentów ludzkiego mięśnia sercowego.

967

### Two-dimensional, nonlinear oscillator model of the atrium with the sinoatrial and atrio-ventricular nodes, first results

Piotr Podziemski<sup>1</sup>, Jan Jacek Żebrowski<sup>1</sup>, Rafał Baranowski<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Wydział Fizyki, Politechnika Warszawska, Warszawa

<sup>2</sup>Instytut Kardiologii im. Prymasa Tysiąclecia Stefana Kardynała Wyszyńskiego, Warszawa

**Background:** Nonlinear models of the heart conduction system can be a source of insight and a tool to distinguish, describe, and understand many cardiovascular phenomena.

**Methods:** We developed a series of the atrium models, with differing anatomical simplification varying from a simple 1-dimensional chain of oscillators to a 2-dimensional mapping of the atrium. The models allowed to relate the local dynamics of the activation wave to heart rate variability measured in clinical heart rate recordings of certain patients. In particular, the 1-dimensional model explained the occurrence of RR interval alternans [1]. Also, it allowed to include the effect of breathing modulation on the heart rate [1]. Moreover conduction effects in the atrium were studied yielding results comparable with certain recorded HRV data. Finally, simulation of the AV node reentry tachycardia (AVNRT type 2 "fast-slow") was conducted-both in an extended, semi 1-dimensional model and in 2D model.

**Results:** The results of our model are comparable to those obtained for a recent ion-channel 1D model of the atrium [2].

In our model, we describe the various cardiac tissues by means of different sets of equations. The two nodes are modeled by diffusively coupled modified van der Pol oscillators of original design [1] while the atrial muscle tissue is represented by the diffusively coupled FitzHugh-Nagumo equations. Our node oscillators were able to reproduce physiologically important properties such as the refraction period, phase sensitivity, the modes of change of the action potential frequency and also take into account the effect of the autonomous nervous system activity in a simplified but effective way [1]. The introduction of a second dimension into the model enables to study the atrio-ventricular node reentry and phase relations between sinus rhythm and the location and properties of an ectopic source. The model includes some anatomical details (e.g. approximate atrium geometry and vein positions) that need to be introduced into the model to obtain the desired patho-physiological effects. Attention will be focused, in particular, on the effect of the structure of the AV node and of the existence of the slow and fast pathways.

**Conclusions:** Ultimately, we intend to produce such a two dimensional model that may be useful for the modeling of ablation procedures.

1. Żebrowski JJ, Kuklik P, Buchner T, Baranowski R. IEEE Eng In Med Biol Mag, 2009; 28: 24–29; 2. Inada S et al. Biophysical J, 2009; 97: 2117–2127.

— 20-min ECG fragments recorded. Male Wistar rats (n = 32) were divided into 4 groups: CONTROL, TNBS, SDV, TNBS+SDV. HRV was compared in each group and VAA were evaluated in groups: CONTROL, TNBS.

**Results:** Parasympathetic indexes (HF, RMSSD) compared in groups. HF in CONT  $0.92 \pm 0.44 \text{ ms}^2$  enhanced in TNBS  $1.11 \pm 0.68 \text{ ms}^2$  (NS) whereas in SDV diminished to  $0.51 \pm 0.14 \text{ ms}^2$  ( $p < 0.02$ ). RMSSD in CONT  $1.29 \pm 0.40$  decreased in SDV  $1.00 \pm 0.08 \text{ ms}$  ( $p < 0.04$ ) and was higher in comparison of SDV v. TNBS+SDV  $1.46 \pm 0.44$  ( $p < 0.01$ ). The sympathetic index LF/HF in CONT  $0.02 \pm 0.01$  raised in TNBS  $0.03 \pm 0.03$  (NS) and in TNBS + SDV  $0.04 \pm 0.01$  ( $p < 0.003$ ) and in SDV  $0.13 \pm 0.15$  ( $p < 0.02$ ) but reduced when we compared SDV v. TNBS + SDV ( $p < 0.05$ ). VAA in control estimate  $0.37 \pm 0.27 \text{ Hz}$  in TNBS increased to  $0.98 \pm 0.28 \text{ Hz}$  ( $p < 0.001$ ).

**Conclusions:** Disturbed sympathetic and also parasympathetic activity indicates pathological changes of the cardiovascular system in TNBS-treated rats. Visceral hypersensitivity and enteric nervous system plasticity of myenteric plexus in response to injury and inflammation causes enhancement of sympathetic reaction. Noxious stimuli increased as well vagal activity. Parasympathetic input has protective effects by modulation of the immune response whereas SDV increased sympathetic overactivity and excessive hyperalgesia.

968

### Vagal impact on autonomic cardiovascular control in TNBS-induced colitis

Katarzyna Ciesielczyk, Agata Furgała, Agata Ziomber, Piotr J. Thor

Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, Kraków

**Background:** Abnormalities of autonomic nervous system are associated with ulcerative colitis (UC), but the influence of vagal activity has not been thoroughly studied.

**Aim:** The objective of the study was to determine the disturbance of sympathetic and parasympathetic reactivity evaluated by parameters of heart rate variability (HRV). In the purpose of identifying the potential vagal contribution we explore vagal afferent nerve activity (VAA) and influence of subdiaphragmatic vagotomy (SDV) in response to the UC progression.

**Methods:** Model of ulcerative colitis inflammation was induced by a enema of trinitrobenzenesulfonic acid — TNBS (50 mg/kg, 0.5 ml, 30% EtOH). SDV was performed on both vagal nerves. VAA in anaesthetized rats were recorded through cuff electrode placed on isolated end of afferent nerve of the cervical left vagus nerve. Autonomic cardiovascular control was evaluated by the time- and frequency-domain indexes of HRV

969

### Dynamika arytmii w modelu matematycznym ściany naczynia

Teodor Buchner<sup>1</sup>, Jakub Pietkun<sup>1</sup>, Paweł Kuklik<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Wydział Fizyki, Politechnika Warszawska, Warszawa

<sup>2</sup>Royal Adelaide Hospital, Adelaide

Czynność mięśni gładkich wiąże się nie tylko z propagacją potencjału czynnościowego, ale także z obecnością fal wapnia, związanych nie tyle z krążeniem zewnątrzkomórkowego wapnia, co z synchronizacją cyklu obiegu wapnia wewnątrzkomórkowego pomiędzy sąsiednimi komórkami. Ośrodek o takiej dynamice z punktu widzenia fizyki stanowi ciekawy przykład ośrodka aktywnego w stanie oscylacyjnym (samowzbudnym). Własności takiego ośrodka są częstokroć różne od tych znanych z innego ośrodka aktywnego, jakim jest mięsień sercowy. W szczególności w pracy zajęliśmy się możliwością powstawania, propagacji i zaniku fal spiralnych oraz fal o innych topologiach w modelu matematycznym [1] komórek mięśni gładkich w ścianie naczynia. Synchronizacja sąsiednich komórek w omawianym modelu następuje pod wpływem trojkiego rodzaju sprzężeń: sprzężenia wapniowego, sprzężenia przez

potencjał czynnościowy oraz sprzężenia przez stężenie IP3. Pokazujemy, iż model matematyczny przewiduje możliwość propagacji w tkance fal o topologiach różnych niż fizjologiczna fala aktywności wazomotorycznej. W szczególności pokazujemy, iż lokalna aktywność ośrodka, taka jak na przykład obecność fali spiralnej, może zatrzymać fizjologiczną falę aktywności wazomotorycznej, co może przyczynić się do osłabienia odpowiedzi naczyniowej. Postulowane przez nas formy aktywności mięśni gładkich wydają się możliwe do zaobserwowania w warunkach laboratoryjnych, co stanowi intencję naszego wystąpienia.

1. Koenigsberger M, Sauser R, Lamboley M, Beny JL, Meister JJ. Ca<sup>2+</sup> dynamics in a population of smooth muscle cells: modeling the recruitment and synchronization. *Biophys J*, 2004; 87: 92–104.

970

### Centralna rola mitochondriów w powstawaniu stresu oksydacyjnego i dysfunkcji śródbłonna w krążeniu wieńcowym

Emilia Klemenska, Anna Konior, Andrzej Beręsewicz

Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa

Elementem patofizjologii różnych chorób układu sercowo-naczyniowego, ale także powikłań związanych ze stosowaniem np. nitrogliceryny jest zwiększona produkcja anionorodnika ponadtlenkowego (.O<sub>2</sub>-) w ścianie naczyń. Próby terapeutyczne z użyciem antyoksydantów (np. witaminy A, E i C) nie przyniosły oczekiwanych korzyści. W tej sytuacji wydaje się, że większe korzyści mogłoby mieć leczenie nacelowane na blokowanie produkcji .O<sub>2</sub>- zamiast na unieszkodliwianie już powstałego .O<sub>2</sub>-. Warunkiem opracowania takiego leczenia jest dokładne poznanie mechanizmu naczyniowego stresu oksydacyjnego. Poprzednio wykazaliśmy, że źródłem .O<sub>2</sub>- w naczyniach są oksydaza NADPH i oksydaza ksantynowa pobudzające się nawzajem i wobec tego działające jako kompleks czynnościowy. Obecnie testowaliśmy hipotezę, że regulatorem tego kompleksu i naczyniowej produkcji .O<sub>2</sub>- są mitochondria. Eksperymenty zostały wykonane na izolowanych sercach świnki morskiej. Wykazaliśmy w tym modelu, że wymienione poniżej interwencje skutkują aktywacją kompleksu NADPH oksydaza/oksydaza ksantynowa oraz zwiększoną produkcją .O<sub>2</sub>- i że efekty każdej z tych interwencji są blokowane przez inhibitory mitochondrialnego kompleksu II i mitochondrialnych kanałów potasowych zależnych od ATP. (a) endotelina i angiotensyna; (b) aktywator mitochondrialnych kanałów potasowych, diazoksyd (w małym stężeniu 2.5 μM), o którym wiadomo, że w wyższych stężeniach jest także inhibitorem mitochondrialnej

dehydrogenazy bursztynianowej; (c) inhibitor dehydrogenazy bursztynianowej, kwas 3-nitro-propionowy (3-NPA); (d) nitrogliceryna, o której wiadomo, że powoduje naczyniowy stres oksydacyjny, a także zahamowanie mitochondrialnej postaci dehydrogenazy aldehydowej; (e) benomyl, inhibitor mitochondrialnej postaci dehydrogenazy aldehydowej. Postulujemy, że mitochondria są czynnikiem inicjującym naczyniowy stres oksydacyjny, natomiast jego elementem wykonawczym i zarazem wzmacniającym jest kompleks oksydaza NADPH/oksydaza ksantynowa.

971

### Interakcja między układem oreksynergicznym a wazopresynergicznym w regulacji ciśnienia tętniczego i tętna w warunkach spoczynkowych i w warunkach stresu immobilizacyjnego u szczurów normotensyjnych i szczurów z nadciśnieniem tętniczym

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

Katedra i Zakład Fizjologii Doświadczalnej i Klinicznej, Warszawa

**Wstęp:** Oreksyny należą do podwzgórzowych peptydów regulujących bilans energetyczny organizmu. Podanie oreksyn do płynu mózgowo-rdzeniowego zarówno u zwierząt głodnych, jak i nasyconych prowadzi do zwiększenia przyjmowania pokarmu. Komórki wykazujące ekspresję genów dla oreksyn zidentyfikowano w bocznym podwzgórzu (LH) oraz w tylnym podwzgórzu (PH). Szeroki zakres projekcji neuronów oreksynergicznych od dawna sugerował, że peptydy te mogą odgrywać rolę w regulacji także innych zjawisk fizjologicznych. Badania immunohistochemiczne wykazały obecność długich zstępujących projekcji oreksynergicznych unerwiających wszystkie poziomy rdzenia kręgowego — od odcinka szyjnego do krzyżowego. Zarówno struktury podwzgórza, jak i struktury pnia mózgu regulujące czynność układu krążenia są unerwione przez zakończenia oreksynergiczne. Wazopresyna należy do peptydów podwzgórzowych pełniących funkcję neurohormonów oraz neurotransmiterów/neuromodulatorów. Obwodowo zaangażowana jest głównie w kontrolę równowagi wodno-elektrolitowej oraz ciśnienia tętniczego krwi. Działając ośrodkowo, wazopresyna wpływa na zdolność zapamiętywania, uczenia się oraz reguluje czynność układu krążenia, układu oddechowego i układu limbicznego. Rola wazopresyny jest szczególnie silnie wyrażona w warunkach stresowych, a dysfunkcje w układzie wazopresynergicznym odgrywają olbrzymią rolę w patofizjologii schorzeń układu krążenia. Wzrost ciśnienia tętniczego po ośrodkowym podaniu wazopresyny wynika z pobudzenia układu współczulno-nadnerczowego; efekt ten zależy od sty-

mulacji receptora V1a w obrębie obszaru RVLM (dogłowego-brzuszno-bocznego obszaru rdzenia przedłużonego).

**Cel:** Celem projektu było określenie interakcji między układem oreksynergicznym a wazopresynergicznym w regulacji ciśnienia tętniczego i tętna w warunkach spoczynkowych i w warunkach stresu immobilizacyjnego u szczurów normotensyjnych i szczurów z nadciśnieniem tętniczym.

**Metody:** Eksperyment wykonano na 29 szczurach normotensyjnych (WKY) oraz 33 szczurach z nadciśnieniem tętniczym (SHR). Zwierzęta podzielono na pięć grup eksperymentalnych. Pierwszą grupę poddano działaniu stresu immobilizacyjnego poprzez umieszczenie w przezroczystej plastikowej tubie z pełnym dostępem do powietrza atmosferycznego na okres 25 minut. Drugą grupę poddano trwającej 15 minut ośrodkowej infuzji 3,5 nmol oreksyny A w roztworze 10 ul 0,9% NaCl. W trzeciej grupie podawano ośrodkowo niepeptydowy selektywny bloker receptorów V1a w dawce: 500 ng/10 ul 10% DMSO. Czwarta grupa otrzymywała jedynie 0,9% NaCl, a piąta grupa — jedynie 10% DMSO.

**Wyniki:** Średnie wartości ciśnienia tętniczego (MAP) w warunkach spoczynkowych u zwierząt normotensyjnych wynosiły 120 mm Hg. U zwierząt z nadciśnieniem tętniczym wartości MAP wynosiły ok. 170 mm Hg. Podanie oreksyny A wywoływało istotnie statystyczny wzrost zarówno MAP, jak i HR u zwierząt WKY, ale nie u SHR. Wzrost MAP był przy tym wyraźniejszy i obserwowany wcześniej w porównaniu ze zmianami HR. Z drugiej strony, ośrodkowa infuzja blokera receptora V1a redukowała istotnie statystycznie MAP jedynie u szczurów SHR. Zmiany HR pod wpływem tej infuzji nie były istotne statystycznie z żadnej z grup zwierząt. Stres immobilizacyjny spowodował istotną odpowiedź tachyarytmiczną oraz presyjną jedynie u szczurów SHR, przy czym wzrost HR był wyraźniejszy i utrzymywał się dłużej w porównaniu z przyrostami MAP. Wstępne dane sugerują ponadto: 1) możliwość wywołania odpowiedzi presyjnej przez stres immobilizacyjny u szczurów WKY, jeśli uprzednio zostanie podana oreksyna; 2) istotne ograniczenie efektu presyjnego oreksyny u szczurów WKY poprzez jednoczesną infuzję blokera aV1a; 3) brak wpływu egzogennej oreksyny na efekty podania aV1a u szczurów SHR.

**Wnioski:** Wyniki pracy wskazują na dużo większą aktywność układu oreksynergicznego u szczurów z nadciśnieniem tętniczym w porównaniu ze szczepem z prawidłowymi wartościami ciśnienia tętniczego oraz potwierdzają udział oreksyny w regulacji czynności układu krążenia w warunkach stresowych. Potwierdzenie interakcji między układem oreksyny i wazopresyny w regulacji czynności układu krążenia wymaga badania na większej grupie zwierząt.

973

## Mechanizm stresu oksydacyjnego i dysfunkcji śródbłonkowej w sercu świnek morskich z indukowaną cukrzycą

Anna Konior, Emilia Klemenska, Andrzej Beręsewicz

Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa

**Wstęp:** Dysfunkcja śródbłonkowa jest czynnikiem inicjującym proces miażdżycowy. Towarzyszy różnym czynnikom ryzyka choroby sercowo-naczyniowej, w tym cukrzycy. Czynnikiem wywołującym dysfunkcję śródbłonkową jest nadprodukcja w ścianie naczyniowej anionorodnika ponadtlenkowego (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), który unieczynnia tlenek azotu (NO) i/lub hamuje jego śródbłonkową produkcję. Nadprodukcja O<sub>2</sub><sup>-</sup> może być wynikiem zwiększonej aktywności i/lub ekspresji enzymów produkujących O<sub>2</sub><sup>-</sup> oraz zmniejszonej aktywacji/ekspresji enzymów usuwających O<sub>2</sub><sup>-</sup>.

**Cel:** Celem pracy było zbadanie komórkowego mechanizmu stresu oksydacyjnego i dysfunkcji śródbłonkowej w cukrzycy.

**Metody:** Świnki morskie otrzymywały jednorazową dootrzewnową iniekcję streptozotocyny (50 mg/kg, cukrzyca) lub rozpuszczalnika (grupa kontrolna). U zwierząt traktowanych streptozotocyną skutkowało to glikemią ~300 mg/dl v. ~120 mg/dl w grupie kontrolnej. Po 6 tygodniach serca były izolowane i perfundowane metodą Langendorffa. Mierzono: 1) przepływ wieńcowy; 2) zmiany przepływu wieńcowego pod wpływem acetylocholin (ACh), które były miarą funkcji śródbłonka; 3) sercową produkcję O<sub>2</sub><sup>-</sup> i NO; 4) aktywność oksydazy NADPH (NOX) i oksydazy ksantynowej (XO) w homogenatach serca; 5) ekspresję białka: podjednostki gp91phox NOX, oksydoreduktazy, oksydazy ksantynowej, eNOS, MnSOD, CuZnSOD i ecSOD w sercu.

**Wyniki:** W sercach zwierząt z cukrzycą, w porównaniu do serc kontrolnych, przepływ wieńcowy wzrósł o 45%, odpowiedź acetylocholinowa spadła o 90%, produkcja O<sub>2</sub><sup>-</sup> wzrosła o 80%, a całkowita produkcja NO zmniejszyła się o 50%. Zmianom tym towarzyszył ~60% wzrost aktywności NOX i XO. W sercach cukrzycowych wzrosła ekspresja podjednostki gp91phox (100%) oraz ekspresja XO (60%). Zmniejszyła się natomiast ekspresja eNOS (35%) oraz trzech izoform SOD (50%).

**Wnioski:** 1. Produkcja O<sub>2</sub><sup>-</sup> w sercu świnki morskiej z cukrzycą jest zwiększona w porównaniu z sercami kontrolnymi i towarzyszy temu dysfunkcja śródbłonka i zwiększony przepływ wieńcowy. 2. Oksydaza NADPH oraz XO są źródłem zwiększonej produkcji O<sub>2</sub><sup>-</sup> w cukrzycy. 3. Zwiększona aktywność tych enzymów jest wynikiem ich zwiększonej ekspresji. 4. Dysfunkcja śródbłonkowa w cukrzycy jest wynikiem zwiększonej inaktywacji NO przez O<sub>2</sub><sup>-</sup>, jak i zmniejszonej produkcji NO, na co wskazuje zmniejszona ekspresja eNOS. 5. Na mechanizm stresu oksydacyjnego w cukrzycy składa się zwiększona

produkcja i zmniejszone usuwanie O<sub>2</sub>- (o tym ostatnim świadczy spadek ekspresji izoform SOD).

974

### Wczesna zmiana funkcji wymiennika Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> po zawale serca u szczura

Urszula Mackiewicz<sup>1</sup>, Michał Mączewski<sup>1</sup>, Emilia Klemenska<sup>1</sup>, Magdalena Brudek<sup>2</sup>, Anna Konior<sup>1</sup>, Elżbieta Czarnowska<sup>2</sup>, Bohdan Lewartowski<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Zakład Fizjologii Klinicznej, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa

<sup>2</sup>Zakład Patologii, Instytut „Pomnik Centrum Zdrowia Dziecka”, Warszawa

**Wstęp:** Główne zmiany zachodzące na poziomie przeżyjących zawał lewej komory (LK) kardiomiocytów dotyczą ekspresji i funkcji białek wewnątrzkomórkowego obiegu Ca<sup>2+</sup>, w tym wymiennika Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> (NCX). NCX jest głównym odkomórkowym transporterem Ca<sup>2+</sup> w znacznym stopniu decydującym o sile skurczu i tempie rozkurczu miocytów. Ponadto, NCX transportując Ca<sup>2+</sup>, generuje depolaryzujący prąd, który w przypadku wzrostu czynności NCX może wywoływać pobudzenia dodatkowe i arytmie. Dotychczas pokazano wzrost czynności NCX w zawansowanej niewydolności serca. Niewiele wiadomo o czynności NCX na wczesnych etapach, prowadzącej do niewydolności, przebudowy serca. Rozpoznanie wczesnych zmian jest szczególnie ważne, ponieważ stwarza szansę na zastosowanie interwencji niedopuszczających do rozwoju niewydolności serca.

**Cel:** Celem pracy było zbadanie czynności NCX podczas pozawałowej przebudowy serca, ze szczególnym uwzględnieniem pierwszych dni po zawale, i sprawdzenie, czy w indukcji potencjalnych zmian bierze udział aktywacja głównego szlaku proprzerostowego w sercu, jakim jest szlak kalcyneuryny (KN).

**Metody:** U szczurów indukowano zawał LK lub wykonywano operację pozorną. W celu zablokowania aktywności KN szczurom podawano przez 4 doby po zawale (od doby 2. do 5.) cyklosporynę A (CsA) lub sól fizjologiczną w dawce 7,5 mg/kg mc. 2 razy na dobę. Miocyty izolowano w dobie 3., 7. i po upływie 2 miesięcy od zabiegu. W tych samych punktach czasowych echokardiograficznie określano wymiary i kurczliwość LK. Miarą czynności NCX była szybkość opadania sygnału Ca<sup>2+</sup> indukowanego podaniem kofeiny.

**Wyniki:** W 3. dobie po zawale dochodzi do 7-krotnego wzrostu aktywności KN, w 7. dobie aktywność ta samoistnie spada. Podawanie CsA skutecznie znosiło pozawałową aktywację KN. W 3. dobie po zawale miał miejsce ponad 40% spadek czynności NCX. Towarzyszył mu wzrost amplitudy sygnału

wapniowego o 75% i siły skurczu o 62%. U szczurów otrzymujących po zawale CsA czynność NCX, amplituda sygnału i siła skurczu były niezmienione. Zniesienie aktywacji KN i normalizacja wewnątrzkomórkowego obiegu Ca<sup>2+</sup> zwiększała rozstrzeń i obniżała frakcję wyrzucania LK w obserwacji odległej (2 miesiące po zawale).

**Wnioski:** Wczesny spadek czynności NCX po zawale jest zależny od aktywacji KN i prowadzi do wzrostu siły skurczu przeżyjących zawał miocytów. Może też stanowić element dodatniego sprzężenia zwrotnego i podtrzymywać korzystną dla pozawałowego serca aktywację KN poprzez zwiększenie wewnątrzkomórkowego stężenia Ca<sup>2+</sup>.

975

### Electrical modulation of renal nerve activity in rats with DOCA-salt hypertension

Agata Ziomber<sup>1</sup>, Katarzyna Ciesielczyk<sup>1</sup>, Olga Wisniewska<sup>1</sup>, Krzysztof Zaraska<sup>2</sup>, Piotr J. Thor<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Pathophysiology, Jagiellonian University Medical College, Kraków

<sup>2</sup>Institute of Electron Technology, Kraków

**Background:** Contribution of renal sympathetic nerves in DOCA-salt hypertension is suggested. One mechanism by which the sympathetic activity maintains fluid, electrolyte and therefore arterial pressure homeostasis is efferent renal nerves. However, the underlying mechanisms leading to development and maintenance of DOCA-salt hypertension remain controversial. We speculated that electrical modulation of renal sympathetic tone might influence blood pressure, salt appetite and activity of the sympathetic nervous system in DOCA-salt treated rats.

**Methods:** 21 female Sprague-Dawley rats were divided into 4 subgroups. All rats were unilaterally nephrectomized. Group 1 (control) received tap water to drink. Group 2 was DOCA-treated and provided with 1% NaCl solution to drink (DOCA-salt). Group 3 received DOCA-salt diet and additional electrical modulation of the left renal nerve activity (RN). In group 4 denervation (RDNX) of the remaining kidney was performed. During the experiment water balance, systolic blood pressure (SBP) (tail cuff plethysmography) and heart rate variability (fast Fourier transform method) were measured.

**Results:** 3 weeks of DOCA-salt treatment increased SBP in all groups (174 ± 30 v. 156 ± 30 mm Hg) except RDNX (135 ± 15 mm Hg). DOCA-NaCl significantly increased HF% compared to the control (Δ HF% = 50), but not in the renal neuromodulated (Δ HF% = 15) or the renal denervated rats (Δ HF% = 10). Both DOCA-salt and RN consumed more saline and excreted more urine compared to the control; however

renal neuromodulation stimulated urine output more potent ( $159 \pm 23$  v.  $126 \pm 30$  ml/24 h) leading to significant decrease in water balance ( $26 \pm 4$  v.  $62 \pm 31$  ml/24 h). RDNX prevented from excessive NaCl saline intake compared to the other groups treated with DOCA-NaCl ( $48 \pm 10$  v.  $188 \pm 10$  v.  $185 \pm 21$  ml/24 h), leading to near-to-control water balance ( $18 \pm 3$  ml/24 h).

**Conclusions:** We conclude that renal sympathetic nerve tone is critically involved in pathogenesis of DOCA-salt hypertension and salt appetite as renal denervation decreased NaCl intake and delayed pressure increase. We showed that DOCA-salt hypertension is linked to hyperactivity of the sympathetic system; however other mechanisms cannot be excluded as electrical modulation of the renal nerve decreased HF power, which although influenced water balance, was not able to prevent from development of salt-sensitive hypertension.

976

### A controlled reperfusion with intra coronary downstream delivery of abciximab and peripheral anticoagulation with bivalirudin in the porcine model of myocardial infarction

Piotr P. Buszman<sup>1</sup>, Marcin Dębiński<sup>2</sup>, Wojciech Wojakowski<sup>1, 3</sup>, Krzysztof Milewski<sup>4</sup>, Wanda Jackiewicz<sup>2</sup>, Błażej Trela<sup>2</sup>, Michał Jelonek<sup>2</sup>, Paweł E. Buszman<sup>1, 3</sup>

<sup>1</sup>American Heart of Poland, Katowice

<sup>2</sup>American Heart of Poland, Dąbrowa Górnicza

<sup>3</sup>Medical University of Silesia, Katowice

<sup>4</sup>The Skirball Center for Cardiovascular Research, CRF, New York

**Background:** The influence of intracoronary abciximab and bivalirudin as an anticoagulant in ST elevation myocardial infarction (STEMI) on myocardial salvage and reperfusion injury (RI) is undetermined.

**Methods:** In 23 landrace pigs myocardial infarct was induced by the occlusion of over-the-wire (OTW) balloon catheter in the medial left anterior descending artery for 60 minutes. Intravenous infusion of bivalirudin was maintained through the whole procedure. Prior to the reperfusion the animals were randomized into control group ( $n = 12$ ) in which intracoronary downstream 5 ml placebo (0.9% NaCl) through the central lumen of the OTW catheter was administered. In the study group ( $n = 11$ ) 0.25 mg/kg downstream i.c. abciximab was infused in the same way. The control coronary angiography and ventriculography was performed before ischemia, 30 minutes and 48 hours after reperfusion. The animals were sacrificed two days after the ischemia. The infarct area (IA) and area at risk (AAR) were marked with Tetrazolinum and Evans blue respectively.

The primary endpoint was the percentage of IA in the AAR (IA/AAR%) and the left ventricle (IA/LV%). Serum biochemical markers of necrosis, inflammation and apoptosis were evaluated 12, 24 and 48 hours after ischemia.

**Results:** The animals in both groups were comparable with regard to sex and weight. Hearts in the both groups had similar AAR (41.9 v. 40.5%,  $p = 0.7$ ). The average infarct size was comparable in the control and the study group as expressed by IA/AAR% (58.1 v. 57.3%,  $p = 0.8$ ) and IA/LV% (28.5 v. 26.3%,  $p = 0.5$ ). This corresponded well with peak troponin level (138.8 v. 129.8 ng/ml,  $p = 0.59$ ) and LV ejection fraction after 2 days (32.2 v. 36.5%,  $p = 0.21$ ). There was also no difference in peak hsCRP (7822 ng/ml v. 8806 ng/ml,  $p = 0.38$ ) and TNF $\alpha$  (94.5 v. 64.3 pg/ml,  $p = 0.51$ ) concentrations. A trend toward higher peak level of IL-6 (215.6 v. 50.1 pg/ml,  $p = 0.08$ ) and adiponectin (11.0 v. 6.8 pg/ml,  $p = 0.1$ ) in the study group was observed.

**Conclusions:** Intracoronary abciximab with peripheral bivalirudin is not superior to bivalirudin unaided in myocardial salvage caused by RI in the porcine ischemia/reperfusion model.

977

### Suplementacja kwasem dekozaheksaenowym (DHA), ale nie kwasem eikozapentaenowym (EPA), zapobiega przerostowi i dysfunkcji lewej komory serca w odpowiedzi na przeciążenie ciśnieniowe

Monika Duda, Urszula Mackiewicz, Michał Mączewski

Zakład Fizjologii Klinicznej, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa

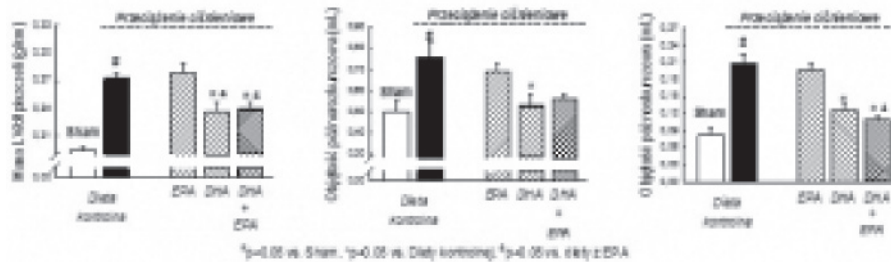
**Wstęp:** Badania kliniczne i nasze wcześniejsze obserwacje sugerują, że suplementacja mieszaniną EPA i DHA —  $\omega$ 3 wielonienasyconymi kwasami tłuszczowymi — zapobiega rozwojowi niewydolności serca.

**Cel:** Celem obecnej pracy było porównanie efektu działania poszczególnych kwasów EPA i DHA na patologię lewej komory serca (LV) w odpowiedzi na przeciążenie ciśnieniowe.

**Metody:** U szczurów karmionych dietą kontrolną lub dietami z EPA, DHA lub EPA + DHA (1:1) indukowano przeciążenie ciśnieniowe, zwężając aortę brzuszna.

**Wyniki:** Po 12 tygodniach przeciążenie ciśnieniowe prowadziło do 39% przerostu LV, 51% wzrostu objętości późno-rozkurczowej i 149% wzrostu objętości późnoskurczowej u szczurów karmionych dietą kontrolną. Jak pokazano na rycinie 1, efektem tym zapobiegały diety z DHA i EPA + DHA, ale nie z EPA. U zwierząt karmionych dietami z DHA i EPA + DHA w porównaniu z dietą kontrolną niższe były w surowicy stężenia





**Rycina 1.** Wpływ przeciążenia ciśnieniowego i suplementacji omega-3 wielonienasyconymi kwasami tłuszczowymi na indeks masy LV do długości kości piszczelowej (prawy panel), objętość późnorozkurczową LV (środkowy panel) i objętość późnoskurczową LV (lewy panel)

nia wolnych kwasów tłuszczowych ( $0,27 \pm 0,02$ ;  $0,28 \pm 0,03$  v.  $0,55 \pm 0,06$  mmol/l;  $p < 0,05$ , odpowiednio), triglicerydów ( $0,75 \pm 0,5$ ;  $0,79 \pm 0,05$  v.  $1,36 \pm 0,15$  mg/ml;  $p < 0,05$ , odpowiednio) i cholesterolu ( $0,48 \pm 0,02$ ;  $0,51 \pm 0,02$  v.  $0,66 \pm 0,03$  mg/ml;  $p < 0,05$ , odpowiednio) oraz tylko stężenie wolnych kwasów tłuszczowych było niższe u zwierząt karmionych dietą z EPA ( $0,39 \pm 0,02$  v.  $0,55 \pm 0,06$  mmol/l;  $p < 0,05$ ).

**Wnioski:** Podsumowując, suplementacja z DHA, ale nie z EPA, zapobiega przerostowi, przebudowie i upośledzeniu funkcji skurczowej lewej komory serca w odpowiedzi na przeciążenie ciśnieniowe. Kardioprotekcyjnemu działaniu DHA towarzyszyła poprawa profilu lipidowego surowicy.

jednofazowe nasierdziowe potencjały czynnościowe (MAP), a w kardiomiocytach lewej komory oceniano obieg wapnia oraz ekspresję i czynność kanałów jonowych.

**Wyniki:** Iwabradyna zwalniała średnią częstotliwość rytmu serca po ZS o 17%, zmniejszając zarówno częstość występowania VT/VF, jak i śmiertelność z powodu zaburzeń rytmu. ZS prowadził do dyspersji czasu trwania MAP po 45 minutach i 24 godzinach. 24 godziny po zawale rosła ekspresja HCN4 (kanału odpowiedzialnego za potencjalnie proarytmiczny prąd rozrusznikowy IF) oraz natężenie IF w kardiomiocytach oraz rozkurczowy wyciek  $Ca^{2+}$  z siateczki sarkoplazmatycznej przez receptory rianodynowe.

**Wnioski:** Podsumowując, iwabradyna wywiera działanie przeciwararytmiczne w świeżym zawale serca u szczura. Potencjalne mechanizmy tego działania obejmują zapobieganie dyspersji repolaryzacji komory, nadekspresji kanału HCN4 oraz wyciekowi  $Ca^{2+}$  z siateczki sarkoplazmatycznej. Iwabradyna może być atrakcyjnym lekiem przeciwararytmicznym w świeżym zawale serca.

978

### Iwabradyna wywiera działanie przeciwararytmiczne w modelu świeżego zawału serca u szczura

Michał Mączewski<sup>1</sup>, Urszula Mackiewicz<sup>1</sup>, Joseph Y. Gerges<sup>2</sup>, Halina Dobrzyński<sup>2</sup>, Bohdan Lewartowski<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa

<sup>2</sup>University of Manchester, Manchester

**Wstęp:** Komorowe zaburzenia rytmu są istotną przyczyną śmiertelności w świeżym zawale serca (ZS).

**Cel:** Celem badania było sprawdzenie, czy iwabradyna, lek wybiórczo zwalniający częstotliwość rytmu serca, wywiera efekt przeciwararytmiczny w modelu świeżego, niereperfundowanego zawału serca u szczura oraz potencjalnych mechanizmów tego efektu.

**Metody:** Przez 24 godziny po ZS prowadzono ciągły zapis EKG u szczurów otrzymujących iwabradynę lub placebo i rejestrowano epizody częstoskurczu komorowego (VT) i migotania komór (VF). 45 minut i 24 godziny po zawale rejestrowano

979

### Ocena stentu elutującego sirolimus z biodegradowalnego polimeru na modelu przerostu neointymy tętnic wieńcowych świni domowej

Piotr P. Buszman<sup>1</sup>, Krzysztof Milewski<sup>2</sup>, Wanda Jackiewicz<sup>3</sup>, Marcin Dębiński<sup>3</sup>, Wojciech Wojakowski<sup>1, 4</sup>, Adam Partyka<sup>5</sup>, Michał Jelonek<sup>3</sup>, Adam Janas<sup>3</sup>, Paweł E. Buszman<sup>1, 4</sup>

<sup>1</sup>American Heart of Poland, Katowice

<sup>2</sup>The Skirball Center for Cardiovascular Research, New York

<sup>3</sup>American Heart of Poland, Kostkowice

<sup>4</sup>Medical University of Silesia, Katowice

<sup>5</sup>Silesian Heart Center, Zabrze

**Wstęp:** Celem niniejszego badania jest ocena wpływu stentów elutujących sirolimus z platformy biodegradowalnej (BP-SES, Carlo TM, Balton) na przerost neointymy, efekty tkankowe oraz środnabłonkowanie na modelu przerostu neointymy tętnic wieńcowych świni domowej.

**Metody:** Do badania włączono 8 świń rasy Polska Biała Zwistoucha obu płci o masie ciała 37–42 kg. U każdego ze zwierząt do każdej z tętnic wieńcowych losowo, w stosunku 2:1, wszczepiono 16 stentów badanych BP-SES oraz 8 metalowych (BMS, Chopin2, Balton) przy użyciu techniki nadmierne go rozprężenia. Kontrolne badanie koronarograficzne, ultrasonografii wewnątrznaczyniowej (IVUS) oraz eutanazję zaplanowano po 1- (4 zwierzęta) i 3-miesięcznej obserwacji. Segmenty naczyń ze wszczepionymi stentami zostały wypreparowane oraz utrwalone w celu dalszej analizy histopatologicznej.

**Wyniki:** W koronarograficznej ilościowej ocenie naczyń (QCA) po implantacji nie było różnic pod względem rozmiaru referencyjnego (RD), minimalnego światła naczyń (MLD) oraz ostrego przyrostu średnicy naczyń (AG) pomiędzy badanymi grupami. W obserwacji 28-dniowej w grupie badanej zaobserwowano mniejszą, aczkolwiek nieistotną statystycznie późną utratę światła (LL:  $0,40 \pm 3$  mm v.  $0,51 \pm 0,4$  mm;  $p = 0,5$ ) oraz mniejszy stopień zwężenia naczyń, również nieistotny statystycznie ( $8,5 \pm 6\%$  v.  $13,6 \pm 11\%$ ;  $p = 0,3$ ).

**Wnioski:** W 1-miesięcznej obserwacji stenty BP-SES wykazały porównywalną z kontrolą koronarograficzną utratę światła oraz stopień zwężenia światła. Dalsza obserwacja 3-miesięczna, wraz z oceną histopatologiczną, pozwoli na potwierdzenie bezpieczeństwa oraz ewentualnej skuteczności badanych stentów, której wyniki zostaną przedstawione w trakcie prezentacji.

**Aim:** The aim of the study was to evaluate the influence of the vagal nerve stimulation with DB and SF tests on the autonomic nervous system response in healthy volunteers.

**Methods:** To the study were included 30 volunteers (age  $22.5 \pm 2$  years, 11 men, 19 women). There were excluded the persons with diabetes, obesity, cardio-vascular diseases (hypertension, ischemic heart disease, etc.), using drugs influencing the autonomic nervous system activity. Within all the studied individuals there were conducted the heart rate variability (HRV) measurements, BPV and the hemodynamic parameters records at rest, during the DB test (6 breathing per minute) and after 6 min of SF test with using Task Force Monitor 3040i (CNS Systems, Austria), at the same time the gastric myoelectrical activity was measured with using 4-channel electrogastrography (EGG) (PolygramNET, Medtronic, USA).

**Results:** EGG: HRV: Both of the stimulation methods were causing the increase of the heart rate variability parameters according to the pattern of the parasympathetic branch excitation. Making comparison of both of the autonomic nervous system responses there was shown that the response to DB was higher in a range of following parameters (increase of SDNN, lnLF, nLF) than to SF. On the other hand SF was diminishing the HR from  $64.9 \pm 7.5$  to  $63.78 \pm 7$  ( $p = 0.01$ ) and increasing lnHF from  $7.01 \pm 1.15$  to  $7.33 \pm 1.06$  ( $p = 0.0002$ ). SF caused changes in the gastric myoelectrical activity: an increase of dominant power — DP from  $10.49 \pm 0.89$  (log) to  $12.3 \pm 0.98$  ( $p = 0.03$ ) and the mean SWC from  $61 \pm 14$  to  $68.98 \pm 10\%$  ( $p = 0.02$ ) and a decrease in the percentage of the dysrhythmic gastric slow waves from  $20 \pm 14$  do  $17.3 \pm 11\%$  ( $p = 0.049$ ). DB induced an increase of dominant frequency — DF from 2.8 cpm to 3.2 cpm ( $p = 0.04$ ) and DP.

**Conclusions:** We conclude that the sham feeding test, as a simple, non-invasive procedure could be a useful test for evaluation the activity of the parasympathetic branch of the autonomic nervous system. Both parasympathetic stimulations improved gastric myoelectrical activity.

980

### The influence of the vagal nerve stimulation with deep breathing and sham feeding on the autonomic nervous system response

Agata Furgala<sup>1</sup>, Katarzyna Ciesielczyk<sup>1</sup>, Anna Machowska<sup>1</sup>, Barbara Nowak<sup>2</sup>, Joanna Szmigiel<sup>1</sup>, Piotr J. Thor<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Pathophysiology, Medical College, Jagiellonian University, Kraków

<sup>2</sup>Students Science Association by the Department of Pathophysiology, Medical College, Jagiellonian University, Kraków

**Background:** Sham feeding (SF), in the opposite to the deep breathing (DB) test, doesn't belong to the standard autonomic nervous system activity evaluation methods, however it is widely used to the parasympathetic stimulation of the gastrointestinal excretion and motility.

981

### The influence of the exogenous melatonin administration on the autonomic nervous system activity

Anna Machowska, Agata Furgala, Kajetan Juszcak, Katarzyna Ciesielczyk, Agata Ziomber, Piotr J. Thor

Department of Pathophysiology, Medical College, Jagiellonian University, Kraków

**Background:** Melatonin shows multiple biological action potential. Its influence on peripheral receptors may be trigge-

red due to the alterations in autonomic activity, connected with the inhibition of the sympathetic branch of the autonomic nervous system (ANS).

**Aim:** The aim of this study was to assess the influence of exogenous melatonin on the ANS in rats.

**Methods:** The experimental procedures were conducted by using heart rate variability measurements in 10 Wistar rats before and after melatonin administration i.p. in a dosage 100 mg/kg. To the HRV analysis there was used PowerLab (Adinstruments, Australia) set; the measurements were conducted 30 min before administration of melatonin and 60 min after; BP measurements were taken at 10-min intervals. The following parameters of HRV were analyzed using software application Chart Pro 5: mRR [ms], HR [BPM], LF [ms\*ms], HF [ms\*ms].

**Results:** At rest period there was noted domination of parasympathetic component of ANS and higher value of HF (6.21) than LF (4.83). In the time interval between 0–30 min after exogenous melatonin administration there was observed a decrease in the heart rate from 346 to 334 beats per minute and non significant changes of HRV parameters. In the time interval between 30–60 min after exogenous melatonin administration there was noted a decrease of TP (7.72 v. 6.48;  $p < 0.05$ ), LF (4.83 v. 2.48;  $p = 0.04$ ) and HF (6.21 v. 4.46;  $p = 0.03$ ) parameters with dominance of parasympathetic branch and an increase of normalized HF at 3%.

**Conclusions:** These marked changes in the activity of the autonomic nervous system occurring with the triggered point in melatonin administration may influence sympathetic and parasympathetic components of the ANS.

des were synthesized by the solid phase peptide synthesis (SPPS) with the use of a 9-fluorenylmetoxycarbonyl (Fmoc) strategy.

**Results:** From 7 different polipeptides: TP10 (transportan-10), [Lys(AAc)13]TP, [Lys(CAc)13]TP, [Lys(GAc)13]TP, [Lys(TAc)13]TP, [Lys(UAc)13]TP, [Lys(Ac)13]TP only [Lys(Ac)13]TP used at concentration 1  $\mu$ M (the lowest concentration induced significant change in contraction of isolated rat stomach in our pilot study) rendered rat tail artery to be significantly less sensitive to phenylephrine (Emax, pD2 and Hill coefficient decreased significantly).

**Conclusions:** Our results indicate that [Lys(Ac)13]TP belonging to the family of CPP can modify affinity of phenylephrine to  $\alpha$ 1 adrenergic receptors in rat tail artery. Acetylation of specific amino acid residues located in extracellular domains III, IV and V of  $\alpha$ 1 adrenoceptors seems to be the molecular mechanism of this interaction.

---

984

### Wpływ diety wysokotłuszczowej na rozwój niestabilnej blaszki miażdżycowej w pniu ramiennie-głowowym i parametry lipidogramu u myszy pozbawionych genu apolipoproteiny E

Przemysław Węglarz<sup>1</sup>, Ewa Konarska-Kuszevska<sup>1</sup>,  
Magdalena Kocierz<sup>1</sup>, Anika Doruchowska<sup>1</sup>,  
Maria Trusz-Gluza<sup>1</sup>, Christopher Jackson<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Klinika Kardiologii, SPSC nr 7, Śląski Uniwersytet Medyczny, Górnośląskie Centrum Medyczne im. prof. Leszka Gieca, Katowice  
<sup>2</sup>Bristol Heart Institute, University of Bristol, Bristol

---

983

### Cell penetrating protein [Lys(Ac)13]TP modulates phenylephrine vascular action

Ivan Kocić<sup>1</sup>, Jarosław Ruczyński<sup>2</sup>, Renata Szczepańska<sup>1</sup>,  
Mariola Olkiewicz<sup>2</sup>, Brygida Parfianowicz<sup>2</sup>, Izabela Rusiecka<sup>1</sup>,  
Piotr Rekowski<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Zakład Farmakologii, Gdański Uniwersytet Medyczny, Gdańsk  
<sup>2</sup>Wydział Chemii, Gdański Uniwersytet, Gdańsk

**Background:** The family of peptides able to penetrate cell membrane (CPP, cell penetrating peptides) attracted considerations as a potential therapeutic tool for delivery of different substances into the cells.

**Aim:** In this study we looked for possible interactions between some of the CPP and phenylephrine vascular action.

**Methods:** We used isolated rat tail artery and examined the influence of pretreatment by 7 different CPP on concentration-response curve induced by  $\alpha$ 1 receptor agonist phenylephrine. Pepti-

**Wstęp:** Współczesne badania w zakresie kardiologii eksperymentalnej opierają się na zastosowaniu nowoczesnych, genetycznie modyfikowanych modeli zwierzęcych. Posiadane przez nas myszy C57BL/6,129 pozbawione apoE (*apoE knockout*) są uznanym modelem zwierzęcym hipercholesterolemii i miażdżycy. Już po 2–3 miesiącach wysokotłuszczowej diety dochodzi u tych zwierząt do wytworzenia bogatotłuszczowych blaszek miażdżycowych, które mogą ulegać spontanicznej destabilizacji i pęknięciu. Pień ramiennie-głowowy myszy jest miejscem cechującym się rozwojem niestabilnych blaszek miażdżycowych. Mysi model niestabilnej blaszki miażdżycowej jest modelem bardzo praktycznym, w którym do destabilizacji blaszki dochodzi nie tylko po krótkim (ok. 8-tygodniowym) okresie karmienia zwierząt dietą wysokotłuszczową, ale również w ściśle określonym miejscu anatomicznym. Pozwala to na bardziej ekonomiczne i szybsze śledzenie procesów przebiegających w trakcie destabilizacji blaszki miażdżycowej.

**Metody:** Badaniem objęto grupę 37 myszy (C57BL/6,129) apoE<sup>-/-</sup> (samce), karmionych dietą wysokotłuszczową przez

10 tygodni. Po okresie 10 tygodni zwierzęta zostały poddane terminacji poprzez dootrzewnowe podanie tiopentalu w dawce 200 mg/kg. Następnie wykonano kaniulację serca. Po przecięciu żył szyjnych przeprowadzono eksangwinację i perfuzję z zastosowaniem buforu oraz utrwalacza pod stałym ciśnieniem 100 mm Hg, a następnie wykonano chirurgiczne wypreparowanie pnia ramienno-głowego. Ocenę zmian miażdżycowych przeprowadzono w proksymalnej części pnia ramienno-głowego za pomocą standardowych ilościowych komputerowych metod morfometrycznych.

**Wyniki:** Średnia masa ciała myszy w dniu terminacji wynosiła  $38 \pm 6$  g. Stężenie cholesterolu całkowitego wynosiło 608–1783 mg/dl (śr.  $1224 \pm 365$  mg/dl). Natomiast poziom cholesterolu HDL, LDL i triglicerydów wynosił przeciętnie odpowiednio  $110 \pm 14$ ,  $533 \pm 39$  i  $367 \pm 284$  mg/dl. Badania histologiczne proksymalnej części pnia ramienno-głowego są w toku.

**Wnioski:** U myszy pozbawionych genu apoE zastosowanie diety wysokotłuszczowej powoduje hipercholesterolemię i hipertriglicydemię wielokrotnie przekraczającą wartości występujące u myszy apoE<sup>-/-</sup> karmionych dietą niskotłuszczową oraz u myszy typu dzikiego. Wpływ diety wysokotłuszczowej na rozwój niestabilnej blaszki miażdżycowej zostanie oceniony po uzyskaniu wyników badania morfometrycznego.

w surowicy i genetycznie potwierdzoną hipercholesterolemią rodzinną; 20 pacjentów z podwyższonym poziomem cholesterolu LDL w surowicy bez mutacji powodującej hipercholesterolemię rodzinną; 20 zdrowych ochotników z prawidłowym poziomem cholesterolu LDL w surowicy. W każdej z badanych grup było 10 mężczyzn i 10 kobiet. Ocenę funkcji śródbłonka poprzez pomiar wazodylatacji tętnicy ramiennej indukowanej niedokrwieniem wykonano za pomocą echokardiografu Aloka SD-Alpha 10-Miro. Nowa ultrasonograficzna metoda e-Tracking została użyta w celu oszacowania parametrów sztywności naczyniowej: wskaźnika sztywności beta ( $\beta$ ), wskaźnika elastyczności epsilon ( $\epsilon_p$ ), wskaźnika podatności (AC, *arterial compliance*), jednopunktowej prędkości fali tętna (PWV, *one point pulse-wave velocity*). Wyniki FMD były istotnie statystycznie niższe u pacjentów z hipercholesterolemią rodzinną i u wszystkich pacjentów z podwyższonym poziomem cholesterolu LDL w surowicy w porównaniu z grupą kontrolną ( $10,5 \pm 9,6\%$  v.  $21 \pm 14,3\%$ ;  $p < 0,05$ ;  $12,5 \pm 10$  v.  $21 \pm 14,3\%$ ;  $p < 0,05$ ). Nie znaleziono istotnych różnic między pozostałymi grupami w zakresie FMD. Wazodylatacja tętnicy ramiennej pod wpływem endogennie podanej nitrogliceryny była porównywalna we wszystkich badanych grupach. Nie znaleziono również różnic wartości parametrów sztywności naczyniowej ocenianych metodą e-Tracking.

**Wnioski:** Prawidłowa wazodylatacja tętnicy ramiennej pod wpływem endogennie podanej nitrogliceryny u wszystkich badanych sugeruje, że obniżone FMD spowodowane jest dysfunkcją śródbłonka u pacjentów z wysokim poziomem cholesterolu LDL. Brak istotnych statystycznie różnic wśród parametrów sztywności naczyń może świadczyć, że proces miażdżycowy w badanej grupie nie jest zaawansowany. FMD może być użyte do wczesnego wykrywania procesu miażdżycowego u pacjentów z hipercholesterolemią rodzinną.

986

### Ocena i analiza funkcji śródbłonka i parametrów sztywności naczyniowej u pacjentów z genetycznie potwierdzoną hipercholesterolemią rodzinną

Paweł Lewandowski<sup>1</sup>, Agnieszka Węgrzyn<sup>1</sup>, Marta Taszner<sup>1</sup>, Rafał Gałąska<sup>1</sup>, Marcin Gruchała<sup>1</sup>, Magdalena Chmara<sup>2</sup>, Monika Żuk<sup>2</sup>, Janusz Limon<sup>2</sup>, Andrzej Rynkiewicz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>I Katedra i Klinika Kardiologii, Gdański Uniwersytet Medyczny, Gdańsk

<sup>2</sup>Katedra i Zakład Biologii i Genetyki, Gdański Uniwersytet Medyczny, Gdańsk

**Wstęp:** Dysfunkcja śródbłonka jest jedną z pierwszych oznak rozpoczynającego się procesu miażdżycowego.

**Cel:** Celem tego badania była ocena oszacowanej za pomocą wazodylatacji tętnicy ramiennej indukowanej niedokrwieniem (FMD, *flow-mediated dilation*) funkcji śródbłonka oraz parametrów sztywności naczyniowej mierzonych za pomocą metody e-Tracking w grupie pacjentów z genetycznie potwierdzoną bądź wykluczoną hipercholesterolemią rodzinną.

**Metody:** Do badania włączono 60 pacjentów bez incydentów sercowo-naczyniowych oraz objawów klinicznie jawnej choroby sercowo-naczyniowej (śr. wieku  $41,9 \pm 7,7$  roku): 20 pacjentów z podwyższonym poziomem cholesterolu LDL

987

### Zależność między funkcją śródbłonka i parametrami sztywności naczyniowej u pacjentów z genetycznie potwierdzoną hipercholesterolemią rodzinną

Paweł Lewandowski<sup>1</sup>, Agnieszka Węgrzyn<sup>1</sup>, Marta Taszner<sup>1</sup>, Rafał Gałąska<sup>1</sup>, Marcin Gruchała<sup>1</sup>, Magdalena Chmara<sup>2</sup>, Monika Żuk<sup>2</sup>, Janusz Limon<sup>2</sup>, Andrzej Rynkiewicz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>I Katedra i Klinika Kardiologii, Gdański Uniwersytet Medyczny, Gdańsk

<sup>2</sup>Katedra i Zakład Biologii i Genetyki, Gdański Uniwersytet Medyczny, Gdańsk

**Wstęp:** Celem badania była ocena zależności między oszacowaną za pomocą wazodylatacji tętnicy ramiennej indukowanej

niedokrwieniem (FMD, *flow-mediated dilation*) funkcją śródbłonna i parametrami sztywności naczyniowej u pacjentów z genetycznie potwierdzoną bądź wykluczoną hipercholesterolemią rodzinną bez wcześniejszych incydentów sercowo-naczyniowych.

**Metody:** Do badania włączono 60 pacjentów bez incydentów sercowo-naczyniowych oraz objawów klinicznie jawnej choroby sercowo-naczyniowej (średnia wieku  $41,9 \pm 7,7$  roku): 20 pacjentów z podwyższonym poziomem cholesterolu LDL w surowicy i genetycznie potwierdzoną hipercholesterolemią rodzinną; 20 pacjentów z podwyższonym poziomem cholesterolu LDL w surowicy bez mutacji powodującej hipercholesterolemię rodzinną; 20 zdrowych ochotników z prawidłowym poziomem cholesterolu LDL w surowicy. W każdej z badanych grup było 10 mężczyzn i 10 kobiet. Ocena funkcji śródbłonna poprzez pomiar wazodylatacji tętnicy ramiennej indukowanej niedokrwieniem wykonano za pomocą echokardiografu Aloka SD-Alpha 10-Miro. Nowa ultrasonograficzna metoda e-Tracking została użyta w celu oszacowania parametrów sztywności naczyniowej: wskaźnika sztywności beta ( $\beta$ ), wskaźnika elastyczności epsilon (Ep), wskaźnika podatności (AC, *arterial compliance*), jednopunktowej prędkości fali tętna (PWV, *one point pulse-wave velocity*). Oceniono krzywą pulsu i wyznaczono wskaźnik sztywności (SI, *stiffness index*) i wskaźnik odbicia (RI, *reflection index*) za pomocą fotopletyzmo grafu Pulse Trace 2 Micro Medical.

**Wyniki:** Stwierdzono u wszystkich 60 badanych istotne dodatnie korelacje między FMD i AC ( $r = 0,39$ ;  $p < 0,05$ ) oraz istotne ujemne korelacje między FMD a  $\beta$ , Ep i PWV ( $r = -0,42$ ;  $r = -0,41$ ;  $r = -0,53$ ;  $p < 0,05$ ). Najsilniejsze korelacje odnotowano w grupie pacjentów z FH ( $r = 0,42$ ;  $r = -0,64$ ;  $r = -0,61$ ;  $r = -0,7$ ;  $p < 0,05$ ). Ponadto nie znaleziono istotnych korelacji między parametrami sztywności naczyniowej oszacowanymi za pomocą metody e-Tracking a wyznaczonymi z użyciem fotopletyzmo grafu.

**Wnioski:** Zależności między parametrami sztywności naczyniowej oszacowanymi za pomocą metody e-Tracking i FMD wskazują na interakcje między dysfunkcją śródbłonna i przebudową strukturalną naczyń tętniczych. Najsilniejsze korelacje zaobserwowano u pacjentów z hipercholesterolemią rodzinną, dlatego nowe ultrasonograficzne metody oceny parametrów sztywności naczyń i dysfunkcji śródbłonna mogą być przydatne do wczesnego wykrywania remodelingu naczyniowego w tej grupie chorych.

988

### Liza erytrocytów w następstwie kardiowersji elektrycznej u pacjentów z samoistnym migotaniem przedsionków

Marcin Makowski<sup>1</sup>, Konrad Masiarek<sup>1</sup>, Andrzej Fic<sup>1</sup>, Karolina Szymańska<sup>1</sup>, Andrzej Lubiński<sup>1</sup>, Zbigniew Baj<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Klinika Kardiologii Interwencyjnej i Kardiodiabetologii, Uniwersytecki Szpital Kliniczny nr 2 im. WAM, Łódź

<sup>2</sup>Zakład Patofizjologii i Immunologii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny, Łódź

**Wstęp:** Kardiowersja elektryczna jest procedurą terapeutyczną stosowaną w celu konwersji różnego rodzaju arytmii do rytmu zatokowego. Metoda ta jest powszechnie stosowana w przywracaniu rytmu zatokowego u pacjentów z migotaniem przedsionków. Wpływ energii elektrycznej użytej w trakcie kardiowersji na erytrocyty nie jest wyjaśniony.

**Cel:** Celem badania była ocena wpływu kardiowersji elektrycznej na wybrane parametry układu czerwokrwińkowego. Do badania włączono grupę 25 mężczyzn z samoistnym migotaniem przedsionków kierowanych do planowej kardiowersji elektrycznej.

**Metody:** Sposób przeprowadzenia kardiowersji elektrycznej był zgodny z obowiązującymi standardami Polskiego Towarzystwa Kardiologicznego. Pacjenci z przetrwałym migotaniem przedsionków zgodnie z zaleceniami PTK otrzymywali leki przeciwkrzepliwie (Acenocumarol pod kontrolą INR 2,0–3,0) na 4 tygodnie przed kardiowersją. Każdy pacjent kierowany do kardiowersji elektrycznej wyraził świadomą zgodę na sposób przerywania arytmii — kardiowersja — oraz na włączenie do badania. Kardiowersję wykonywano energią dwufazową 50–200 J (defibrylator Zoll – Zoll Corp. USA). Krew obwodową w celu oceny erytrocytów pobierano w dwóch punktach czasowych: T0 — w trakcie trwania migotania przedsionków, T1 — 30 minut po wykonaniu kardiowersji elektrycznej. W pracy oceniano liczbę erytrocytów oraz podstawowe parametry czerwokrwińkowe: Hgb, Hct, MCV, MCH, MCHC, RDW z wykorzystaniem analizatora Pentra 80 Automated Blood Cell Analyzer. Po 6 godzinach oceniano wybrane parametry biochemiczne mogące świadczyć o lizie erytrocytów: bilirubinę całkowitą i bezpośrednią.

**Wyniki:** Kardiowersja elektryczna prądem dwufazowym była skuteczna u wszystkich badanych pacjentów. Średnia energia użyta w trakcie kardiowersji wynosiła 170 J ( $\pm 126$  J). Po wykonaniu kardiowersji elektrycznej zaobserwowano znamienny spadek liczby erytrocytów ( $4,89 \pm 0,07$  v.  $4,57 \pm 0,07$ ;  $p < 0,0001$ ), zmniejszenie stężenia hemoglobiny o średnio 1 g/dl ( $14,96 \pm 0,69$  v.  $14,01 \pm 0,29$ ;  $p < 0,0001$ ) oraz zmniejszenie hematokrytu ( $44,09 \pm 0,69$  v.  $41,11 \pm 0,64$ ;  $p < 0,0001$ ). W zakresie pozostałych markerów układu czerwokrwińkowego zmian nie obserwowano. Po 6 godzinach

obserwowano znamieny wzrost stężenia bilirubiny bezpośrednio  $2,77 \pm 0,25$  v.  $3,22 \pm 0,25$ ;  $p < 0,01$ .

**Wnioski:** Kardiowersja elektryczna prowadzi do rozpadu krwinek czerwonych, co może mieć wpływ na stan kliniczny pacjentów.

989

### Wpływ iwabradyny na ciśnienie centralne u ludzi

Piotr Abramczyk, Anna Dobosiewicz, Maciej Siński

Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa

**Wstęp:** Iwabradyna jest pierwszym lekiem wybiórczo zwalniającym czynność serca. Dzięki selektywnemu hamowaniu prądu rozrusznikowego If w węzle zatokowym lek ten wydaje się pozbawiony innych działań hemodynamicznych.

**Cel:** Celem pracy była ocena wpływu iwabradyny na ciśnienie centralne i pochodne parametry oceniane za pomocą tonometrii aplanacyjnej.

**Metody:** W badaniu wzięto udział 16 zdrowych ochotników (9 K, średnia wieku  $33 \pm 6$  lat). Pomiarów dokonywano przed, a następnie co godzinę po doustnym przyjęciu 7,5 mg iwabradyny (łącznie 4 pomiary w ciągu 3 h).

**Wyniki:** Zgodnie z oczekiwaniami stwierdzono istotne zwolnienie czynności serca, nie obserwowano zmian zarówno obwodowego, jak i centralnego ciśnienia tętniczego. Zaobserwowano natomiast znamieny wzrost centralnego ciśnienia tętna (cPP), ciśnienia wzmocnienia (AP — różnica pomiędzy maksymalnym ciśnieniem skurczowym w aorcie a ciśnieniem w czasie T1 — początek powrotu fali odbitej) oraz wskaźników wzmocnienia (P2/P1 — iloraz maksymalnego ciśnienia skurczowego w aorcie i ciśnienia w czasie T1; AP/cPP — iloraz

ciśnienia wzmocnienia i centralnego ciśnienia tętna), przy czym zmiany te były najsilniej wyrażone w drugiej godzinie po podaniu leku (tab. 1). Co więcej, w dalszej analizie nie stwierdzono korelacji pomiędzy zmianami ocenianych parametrów a zmniejszeniem częstości serca. Korzystną zmianą było natomiast zwiększenie wskaźnika przepływu podwsięrdziowego (SEVR — stosunek pola powierzchni pod krzywą aortalnej fali tętna dla fazy rozkurczowej do fazy skurczowej), spowodowane wydłużeniem czasu rozkurczu.

**Wnioski:** Iwabradyna, poza zwalnianiem czynności serca, wpływa także na inne parametry hemodynamiczne, co nie było wcześniej stwierdzane.

990

### Rola białek rodziny RhoA i oddziaływań mikromechanicznych we wroście i różnicowaniu sercowych komórek macierzystych i progenitorowych

Piotr Wilczek<sup>1</sup>, Michał Zembala<sup>2</sup>, Tomasz Cichoń<sup>3</sup>, Ryszard Smolarczyk<sup>3</sup>, Magdalena Jarosz<sup>3</sup>, Stanisław Szala<sup>3</sup>, Marian Zembala<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Fundacja Rozwoju Kardiologii im. prof. Zbigniewa Religi, Zabrze

<sup>2</sup>Śląskie Centrum Chorób Serca, Zabrze

<sup>3</sup>Instytut Onkologii, Gliwice

**Wstęp:** Sercowe komórki macierzyste i progenitorowe (CSC/CPCs, *Cardiac Stem/Progenitor Cells*) są nowo odkrytą grupą komórek multipotencjalnych, zdolnych do wielokrotnej replikacji i różnicowania się w kardiomiocyty, komórki endotelium oraz komórki mięśni gładkich. Wydaje się, że o właściwym wroście komórek macierzystych decydować mogą m.in.

Tabela 1. Wyniki

Parametr	0 min	120 min	P	Korelacja z ΔHR	P
Częstość serca [1/min]	69,6 ± 9,3	61,6 ± 7,7	< 0,01		
Ciśnienie wzmocnienia: AP [mm Hg]	2,62 ± 2,4	3,87 ± 2,9	< 0,05	-0,218	NS
Wskaźnik wzmocnienia: P2/P1 [%]	114,5 ± 13,2	119,3 ± 14,7	< 0,05	-0,289	NS
Wskaźnik wzmocnienia: AP/PP [%]	11,68 ± 9,1	15,1 ± 0,5	< 0,05	-0,125	NS
Centralne ciśnienie tętna: cPP [mm Hg]	21,6 ± 5,0	23,6 ± 5,5	< 0,05	-0,125	NS
Obwodowe ciśnienie skurczowe: pSBP [mm Hg]	112,4 ± 7,8	113,3 ± 8,9	NS		
Obwodowe ciśnienie rozkurczowe: pDBP [mm Hg]	79,4 ± 6,6	79,7 ± 6,2	NS		
Centralne ciśnienie skurczowe: cSBP [mm Hg]	102 ± 7,4	104 ± 7,7	NS		
Centralne ciśnienie rozkurczowe: cDBP [mm Hg]	80,3 ± 6,6	80,6 ± 6,3	NS		
Wskaźnik przepływu podwsięrdziowego: SEVR	150,5 ± 28,4	178,6 ± 28,1	< 0,01	0,9543	0,01

czynniki mikromechaniczne wynikające z oddziaływań pomiędzy komórkami a elementami macierzy zewnątrzkomórkowej, w oddziaływaniach tych istotne znaczenie przypisuje się rodzinie białek RhoA. Białka te, aktywne w cytoszkieletu komórki, zaangażowane są w wiele procesów komórkowych, takich jak adhezja, proliferacja, migracja oraz różnicowanie.

**Cel:** Celem badań było określenie roli białek RhoA we wzroście i różnicowaniu sercowych komórek macierzystych i progenitorowych.

**Metody:** Do badań były wykorzystywane fragmenty eksplantowanego mięśnia sercowego. Izolowaną tkankę mięśnia sercowego cięto na fragmenty o wielkości 1–2 mm<sup>3</sup>, poddawano trawieniu enzymatycznemu z użyciem roztworów 0,2% Trypsyna/EDTA i 0,1% kolagenoza IV. Następnie trawione fragmenty tkanki płukano w medium IMDM i przenoszono do naczyń hodowlanych i hodowano w standardowych warunkach. Po okresie około 2–3 tygodni z przyczepionych fragmentów tkanek uzyskiwano monowarstwę komórek, wśród których obserwowano małe okrągłe komórki, jasne w kontraście fazowym. Komórki następnie przenoszono na płytki hodowlane opłaszczone poli-D-lizyną i hodowano aż do uzyskania pełnej monowarstwy. Z użyciem technik cytometrii przepływowej oceniano fenotyp komórek w hodowli pierwotnej i wtórnej, ze szczególnym uwzględnieniem ekspresji receptora rodziny białek RhoA. Dodatkowo oceniano podlegały cechy morfologiczne komórek, w tym indeks kształtu komórkowego.

**Wyniki:** W hodowli wtórnej na poli-D-lizynie obserwowano istotny wzrost odsetka komórek c-kit pozytywnych w stosunku do hodowli pierwotnej. Jednocześnie obserwowano wzrost odsetka komórek pozytywnych względem receptora rodziny białek RhoA. Równolegle obserwowano zmiany cech morfologicznych hodowanych komórek wyrażających się zmianami indeksu kształtu komórkowego.

**Wnioski:** Wydaje się, że o właściwym wzroście, migracji i różnicowaniu komórek macierzystych serca mogą decydować m.in. oddziaływania mikromechaniczne komórek z elementami macierzy zewnątrzkomórkowej, a istotne znaczenie w tym procesie odgrywają białka rodziny RhoA.

**Wstęp:** Poza odruchowym zwiększeniem wentylacji w odpowiedzi na hipoksemię chemoreceptory tętnicze wpływają także na parametry układu krążenia. Pobudzenie chemoreceptorów tętnicznych aktywuje m.in. układ współczulny. Reakcja na stymulację chemoreceptorów tętnicznych jest zwiększona u chorych z nadciśnieniem tętniczym. Co ważne, chemoreceptory tętnicze są aktywowane nie tylko w stanie hipoksemii, ale także pobudzone przez prawidłowe ciśnienie parcjale tlenu. Wyłączenie tonicznej aktywności chemoreceptorów tętnicznych można uzyskać poprzez zastosowanie hiperoksycznej mieszanki oddechowej.

**Cel:** Celem pracy było stwierdzenie, czy u chorych z nieleczonym nadciśnieniem tętniczym dezaktywacja chemoreceptorów tętnicznych wpłynie na aktywność współczulną mierzoną metodą mikroneurograficzną (MSNA).

**Metody:** W badaniu uczestniczyło 12 mężczyzn z nadciśnieniem tętniczym pierwotnym nieleczonym ( $36 \pm 9$  lat, BMI  $29 \pm 4$  kg/m<sup>2</sup>) i 8 pacjentów kontrolnych ( $37 \pm 7$  lat, BMI  $27 \pm 5$  kg/m<sup>2</sup>). Podczas badania uczestnicy oddychali 100% i 21% tlenem, przez maskę z zastawką bezwrotną, w sposób zaślepiony. Mierzono MSNA (burst/minutę i średnią amplitudę burstów — au), skurczowe i rozkurczowe ciśnienie tętnicze (SBP i DBP), czynność serca (HR), EKG, saturację (Sat%), końcowo wydechowe CO<sub>2</sub> (et CO<sub>2</sub>).

**Wyniki:** Chorzy z nadciśnieniem tętniczym mieli wyższe wyjściowe MSNA ( $38,6 \pm 8$  burst/min v.  $30,3 \pm 9$  burst/min;  $p < 0,05$ ), SBP ( $149,1 \pm 9,9$  mm Hg v.  $124,1 \pm 11,6$  mm Hg;  $p < 0,05$ ) i DBP ( $92,1 \pm 8,6$  mm Hg v.  $78,1 \pm 8,9$  mm Hg;  $p < 0,05$ ) niż pacjenci kontrolni. Oddychanie 100% tlenem spowodowało istotne zmniejszenie MSNA u chorych z nadciśnieniem (z  $38,6 \pm 8,6$  burst/min do  $26,3$  burst/min  $\pm 6,8$  i z  $100 \pm 0$  au do  $86 \pm 18$  au,  $p < 0,05$ ) i brak zmian w MSNA u chorych kontrolnych ( $30,3 \pm 5,7$  burst/min v.  $27,3$  burst/min  $\pm 6,2$  i  $100 \pm 0$  au v.  $98 \pm 11$  au). Ciśnienie tętnicze, et CO<sub>2</sub>, częstość oddechów nie zmniejszyły się po zastosowaniu 100% tlenu, natomiast wystąpiło znamienne zmniejszenie HR w obu grupach badanych (z  $69,6 \pm 9$  do  $64,1 \pm 7$  u chorych z nadciśnieniem;  $p < 0,05$  i u pacjentów kontrolnych z  $67 \pm 8$  do  $62,5 \pm 7$ ;  $p < 0,05$ ). Sat% w trakcie oddychania 100% tlenem wzrosła w obu grupach. Oddychanie 21% tlenem nie wywołało zmian w obu grupach badanych w zakresie ocenianych parametrów.

**Wnioski:** Zwiększona aktywacja układu współczulnego obserwowana u chorych z nadciśnieniem tętniczym może wynikać ze zwiększonej tonicznej aktywności chemoreceptorów tętnicznych.

991

### Toniczna aktywność chemoreceptorów tętnicznych przyczynia się do zwiększonej aktywacji współczulnej u chorych z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym

Maciej Siński, Jacek Lewandowski, Joanna Bidiuk,  
Piotr Abramczyk, Anna Dobosiewicz, Jacek Przybylski,  
Zbigniew Gaciong

Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa

992

### Krótko- i długoterminowa ocena przeciwpalnego działania wysiłku fizycznego u pacjentów z chorobą niedokrwienną serca

Magdalena Kosydar-Piechna, Maria Bilińska,  
Jadwiga Janas, Ryszard Piotrowicz

Instytut Kardiologii, Warszawa

**Wstęp:** Proces zapalny odgrywa kluczową rolę w rozwoju miażdżycy.

**Cel:** Celem pracy była ocena wpływu 6-tygodniowego treningu aerobowego na parametry zapalne w grupie pacjentów z chorobą niedokrwienną serca (CAD).

**Metody:** 100 mężczyzn w wieku  $55 \pm 5,1$  roku, co najmniej 2 miesiące po CABG zostało zrandomizowanych do 6-tygodniowego treningu aerobowego na cykloergometrze 3 razy w tygodniu z obciążeniem do 60–80% tętna maksymalnego uzyskanego w trakcie próby wysiłkowej (grupa trenująca, TG,  $n = 50$ ) lub do grupy kontrolnej ( $n = 50$ ). Przy włączaniu do badania, po zakończeniu treningu oraz po 6 miesiącach obserwacji u wszystkich pacjentów zostały wykonane: (1) test wysiłkowy na bieżni, (2) stężenie w surowicy krwi parametrów zapalnych, takich jak hsCRP (mg/dL), OB (mm/h), IL-6 (ng/ml), TNF- $\alpha$  (ng/ml), TNF RI and TNF RII (ng/ml).

**Wyniki:** W chwili włączania do badania nie obserwowano istotnych różnic pomiędzy grupami pod względem wszystkich badanych parametrów. Wydolność fizyczna oceniana jako maksymalne pochłanianie tlenu (max VO<sub>2</sub> ml/kg/min) wzrosła istotnie w obu grupach (TG  $24,5 \pm 4,6$  v.  $25,8 \pm 4,3$ ;  $p < 0,02$ ; grupa kontrolna  $24,2 \pm 4,3$  v.  $25,6 \pm 5,0$ ;  $p < 0,05$ ). Jedynie w TG obserwowano istotny spadek parametrów zapalnych: OB ( $10,8 \pm 11,3$  v.  $7,3 \pm 5,8$ ;  $p < 0,002$ ), hsCRP ( $0,4 \pm 1,1$  v.  $0,2 \pm 0,2$ ;  $p < 0,006$ ), IL-6 ( $3,1 \pm 2,5$  v.  $2,2 \pm 1,7$ ;  $p < 0,007$ ), TNF RI ( $1075 \pm 336,4$  v.  $1021,9 \pm 313,6$ ;  $p < 0,04$ ), TNF RII ( $2035,0 \pm 613,7$  v.  $1904,5 \pm 494,3$ ;  $p < 0,009$ ). Jednocześnie tylko w TG obserwowano istotną redukcję w tętnie spoczynkowym (HR  $68,4 \pm 11,2$  v.  $64,5 \pm 10,6$ ;  $p < 0,03$ ) i poprawę w przyroście tętna (delta HR  $54,4 \pm 15,4$  v.  $61,3 \pm 14,0$ ;  $p < 0,05$ ) mierzonych podczas próby wysiłkowej. Po 6 miesiącach obserwacji wydolność fizyczna była istotnie wyższa w porównaniu z wartościami wyjściowymi (TG  $26,8 \pm 4,4$ ;  $p < 0,0009$ ; grupa kontrolna  $25,8 \pm 5,33$ ;  $p < 0,006$ ). Tylko w TG utrzymywała się istotna redukcja parametrów zapalnych w porównaniu ze stężeniami wyjściowymi: OB  $7,8 \pm 6,7$ ;  $p < 0,02$ ; hsCRP  $0,2 \pm 0,2$ ;  $p < 0,05$ ; IL-6  $2,1 \pm 1,9$ ;  $p < 0,02$ ; TNF RI  $1030 \pm 335,7$ ;  $p < 0,04$  i TNF RII  $1756,2 \pm 525,7$ ;  $p < 0,0001$ . Jedynie w TG nadal obserwowano istotną redukcję HR  $64,5 \pm 12,3$ ;  $p < 0,04$  i poprawę delta HR  $58,5 \pm 13,0$ ;  $p < 0,04$  w porównaniu z parametrami wyjściowymi. Poziom TNF- $\alpha$  nie zmienił się istotnie w żadnej z badanych grup w ciągu całego badania.

**Wnioski:** 6-tygodniowy trening fizyczny ma korzystny wpływ na czynniki prozapalne i na poprawę parametrów aktywności układu autonomicznego u pacjentów z CAD i efekt ten utrzymuje się w obserwacji 6-miesięcznej.

993

### Fibrin presence within aortic valves in patients with aortic stenosis: association with thrombin generation and fibrin clot properties

Joanna Natarska<sup>1</sup>, Grzegorz Marek<sup>1</sup>, Marta Hlawaty<sup>2</sup>,  
Jerzy Sadowski<sup>1</sup>, Wiesława Tracz<sup>1</sup>, Anetta Undas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Cardiology, Jagiellonian University School of Medicine, Kraków

<sup>2</sup>John Paul II Hospital, Kraków

**Background:** A role of blood coagulation in the pathogenesis of aortic stenosis (AS) is unknown.

**Aim:** To investigate the fibrin (Fn) presence in calcified stenotic aortic valve leaflets and to analyze its plasma-derived determinants.

**Methods:** Immunofluorescence and morphometric analysis of the presence of Fn and tissue factor (TF) within aortic valve leaflets. Ex vivo plasma fibrin clot permeability, compaction, turbidimetry and lysis time, together with plasma prothrombin fragment 1+2 (F1.2) and D-dimer, were determined. 21 consecutive patients with dominant AS and 17 well-matched patients with dominant aortic insufficiency (AI) undergoing aortic valve replacement were studied.

**Results:** Fn-positive (41.4%) and TF-positive (25.3%) areas were increased in AS valves compared with AI valves (7.9% and 5.9%, respectively, both  $p < 0.001$ ). Compared with AI subjects, patients with AS had elevated plasma fibrin D-dimer ( $236.4 \pm 28$  v.  $142.8 \pm 10$  ng/ml,  $p = 0.002$ ) and F1.2 ( $261.7 \pm 27.1$  v.  $131.2 \pm 11.3$  pmol/l,  $p = 0.005$ ). In AS patients Fn-positive areas within the leaflets correlated with plasma D-dimer ( $r = 0.45$ ,  $p = 0.018$ ) and F1.2 ( $r = 0.64$ ,  $p = 0.002$ ) as well as the time required for fibrin clot formation ( $r = 0.44$ ,  $p = 0.015$ ) and maximum absorbance of fibrin clots ( $r = -0.38$ ,  $p < 0.0001$ ), but not with clot permeability or lysis time. Thickness of Fn layer within AS valves was associated with lag phase ( $r = 0.68$ ,  $p = 0.048$ ) and maximum transvalvular gradient ( $r = 0.41$ ,  $p = 0.048$ ).

**Conclusions:** This study is the first to show that in patients with advanced AS, large fibrin amounts, mostly co-localized with TF, are present within the valve leaflets. Thrombin generation and fibrin clot formation are associated with the extent of Fn presence within leaflets, which might contribute to the AS progression.



995

### **Analiza ekspresji szeregu markerów miogennych, kardiomiogennych oraz genów odpowiedzialnych za pluripotencję oraz właściwości immunogenne w populacjach mioblastów ludzkich**

Grzegorz Cinciąła, Natalia Rozwadowska,  
Tomasz Kolanowski, Maciej Kurpisz

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

Badania prowadzono na mioblastach (prekursorowych komórkach mięśniowych) izolowanych z mięśni szkieletowych. Wykonano analizę kilku klasterów genów, zwracając jednocześnie uwagę na wystąpienie różnic pomiędzy populacjami komórek wczesno- i późnoadherentnymi, uzyskanymi dzięki technice „preplate” opisywanej w modelu mysim jako techniki pozwalającej na izolację komórek pochodzenia miogennego o zwiększonej plastyczności. Przeprowadzono odczyn immunohistochemiczny na obecność desminy — dla potwierdzenia mięśniowego charakteru badanych komórek oraz podjęto próbę wyodrębnienia populacji mioendotelialnej charakteryzującej się obecnością antygenów CD34, CD56 i CD144. Obecność desminy wykazywało ponad 50% komórek, co potwierdziło miogenny charakter izolowanych mioblastów. Analizowane geny podzielono na podgrupy: geny miogenezy, geny związane z kardiomiogenezą, geny charakterystyczne dla stanu pluripotencji oraz związane z immunogennością izolowanych komórek. Najwyższym poziomem ekspresji charakteryzowały się geny z grupy miogenezy (MYF5, MYOD, MYOG, MRF4); co ciekawe zanotowano również ekspresję niektórych genów kardiomiogennych (MEF2C, MYL2, MYH6), jednak mRNA kodujące czynniki transkrypcyjne, takie jak GATA4 oraz NKX2.5 czy ISL1 związane z kardiomiogenezą, nie zostało zidentyfikowane w żadnej z badanych populacji. Interesujący wydaje się fakt identyfikacji transkryptów dla genu OCT4 — produkt białkowy tego genu jest ściśle związany z utrzymaniem stanu pluripotencji. Niejednoznaczny wynik uzyskano w analizie ekspresji genów rodziny MHC — okazało się, że obecność konkretnych antygenów HLA II jest raczej osobniczo zależna (delecje), podczas gdy wszystkie badane populacje wykazywały ekspresję HLA I. Analiza cytometryczna antygenów świadczących o charakterze mioendotelialnym hodowanych komórek wykazała jedynie stałą obecność CD56. Antygen ten oznaczono w ok. 70% komórek, co po raz kolejny potwierdza, iż izolowane przez nas populacje mają charakter miogenny. Obecność antygeny CD34, charakterystycznego dla macierzystych komórek hematopoetycznych, była bardziej zróżnicowana i wahała się 3–69%. CD144 nie występował na powierzchni

badanych komórek, co bezpośrednio wykluczyło możliwość uzyskania komórek mioendotelialnych. Dokładna charakterystyka stosowanych w terapii regeneracyjnej komórek ma szansę wpłynąć na wybór optymalnej populacji komórek, które osiągną fenotyp zbliżony do kardiomiocytów, mogłyby w pełni podjąć funkcje uszkodzonego miokardium.

996

### **Implantacja autologicznych mioblastów pochodzenia szkieletowego w kardiomiopatii pozaniedokrwiennnej, opis przypadku**

Adam Sokal<sup>1</sup>, Roman Przybylski<sup>2</sup>, Marian Zembala<sup>2</sup>,  
Natalia Rozwadowska<sup>3</sup>, Małgorzata Białas<sup>3</sup>,  
Radosław Lenarczyk<sup>1</sup>, Tomasz Niklewski<sup>2</sup>,  
Karol Miszański-Jamka<sup>2</sup>, Beata Średniawa<sup>1</sup>, Maciej Kurpisz<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Klinika Kardiologii, Wrodzonych Chorób Serca i Elektroterapii, Śląski Uniwersytet Medyczny, Centrum Chorób Serca, Zabrze

<sup>2</sup>Klinika Chirurgii Serca i Transplantologii, Śląski Uniwersytet Medyczny, Centrum Chorób Serca, Zabrze

<sup>3</sup>Instytut Genetyki Człowieka, Polska Akademia Nauk, Zakład Biologii Rozrodu i Komórek Macierzystych, Poznań

Pacjent w wieku 45 lat, z rozpoznaniem kardiomiopatii pozaniedokrwiennnej (wykluczono ostre tło infekcyjne) po ocenie frakcji wyrzutowej, z charakterystyką spoczynkową w rezonansie magnetycznym oraz po następowym zaimplantowaniu kardiowertera-defibrylatora (wskutek spowodowanej arytmii) został wyselekcjonowany do podania autologicznych mioblastów przy okazji wykonania plastyki zastawki mitralnej. Dokonano także oceny maksymalnego zużycia tlenu oraz stężenia (w surowicy krwi) hormonu natriuretycznego (NT). W wyniku 12-miesięcznego monitorowania uzyskano stopniową, ale znaczącą poprawę stanu klinicznego. Zaznaczyły się następujące objawy: spadek klasy NYHA z wyjściowej III stopnia do stopnia II, wzrost frakcji wyrzutowej lewej komory z 26% do 40%, wzrost wysiłkowego (maksymalnego) zużycia tlenu z 18,5 ml/min/kg masy ciała do 27,7 ml/min/kg masy ciała oraz spadek stężenia hormonu natriuretycznego z 5337 pg/ml do 198 pg/ml. Tachykardię pochodzenia komorowego opanowywano podawaniem meksyletyny. Doppler tkankowy wykazywał znaczną poprawę wraz z ewidentnym wzrostem globalnej funkcji diastolicznej lewej komory. Badanie to może wskazywać na możliwość prób klinicznych z implantacją komórek macierzystych także w kardiomiopatii o tle pozaniedokrwiennym.

998

### Gęstość mostkowych połączeń elastynowych w miokardium jest powiązana z wymiarami i masą mięśnia lewej komory serca, ale nie z parametrami jej funkcji u pacjentów z ciężką stenozą aortalną

Andrzej Koprowski<sup>1</sup>, Ryszard Smoleński<sup>2</sup>, Rafał Gałąska<sup>1</sup>, Marcin Fijałkowski<sup>1</sup>, Maksymilian Mielczarek<sup>1</sup>, Jan Rogowski<sup>3</sup>, Rafał Pawlaczyk<sup>3</sup>, Andrzej Rynkiewicz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Klinika Kardiologii, Uniwersyteckie Centrum Kliniczne, Gdańsk

<sup>2</sup>Katedra Biochemii, Gdański Uniwersytet Medyczny, Gdańsk

<sup>3</sup>Klinika Kardiologii, Uniwersyteckie Centrum Kliniczne, Gdańsk

**Wstęp:** Przewlekłe przeciążenie u pacjentów z ciężką stenozą aortalną jest przyczyną przerostu mięśnia i dysfunkcji skurczowej i rozkurczowej lewej komory serca. Zmiany w budowie macierzy pozakomórkowej mięśnia sercowego mogą mieć istotny wpływ na rozwój tych patologii.

**Cel:** Postulujemy, iż jednym z głównych wskaźników remodelingu i dysfunkcji mięśnia lewej komory u pacjentów ze stenozą aortalną jest gęstość mostkowych połączeń elastynowych w macierzy pozakomórkowej mięśnia sercowego.

**Metody:** Przeprowadzono badanie echokardiograficzne u 40 kolejnych pacjentów (średni wiek  $65 \pm 11$  lat) z ciężką stenozą aortalną na tle zwyrodnieniowym, bez zawału mięśnia sercowego, zakwalifikowanych do wymiany zastawki aortalnej. U wszystkich pacjentów obecny był rytm zatokowy. Biopsja endomiokardialna wykonywana była podczas operacji wymiany zastawki aortalnej. W pobranym bioptacie, za pomocą wysokowydajnej chromatografii cieczowej — spektroskopii masowej (LC/MS) oceniano gęstość mostkowych połączeń elasty-

nowych, wyrażoną jako stosunek desmosyny do hydroksyproliny (współczynnik D/H).

**Wyniki:** Średni D/H  $7,4 \pm 3,7 \mu\text{mol}/\text{mmol}$ . Średnia AVA  $0,58 \pm 0,25 \text{ cm}^2$ , średni maxPG przez zastawkę aortalną  $98 \pm 35 \text{ mm Hg}$ , średnia EF  $70 \pm 13\%$  i średni LV Mass Index  $149 \pm 32 \text{ g}/\text{m}^2$ . Korelacja pomiędzy D/H a oznaczonymi parametrami echokardiograficznymi została przedstawiona w tabeli 1.

**Wnioski:** Wyniki naszego badania sugerują, że gęstość mostkowych połączeń elastynowych jest istotnym wskaźnikiem remodelingu lewej komory, ale nie jej funkcji skurczowej i rozkurczowej. Wyjaśnienie, czy jest to związane ze zmianami w budowie ściany naczyń, czy zmianami w samym mięśniu sercowym wymaga dalszych badań.

999

### Zmiany aktywności N-metylotransferazy nikotynamidu (NNMT) w toku zapalenia wątroby wywołanego przez ConA

Magdalena Sternak<sup>1</sup>, Tamara I. Khomich<sup>2</sup>, Andrzej Jakubowski<sup>3</sup>, Małgorzata Szafarz<sup>4</sup>, Wojciech Szczepański<sup>5</sup>, Joanna Szymura-Oleksiak<sup>4</sup>, Stefan Chłopicki<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Zakład Farmakologii Doświadczalnej, Katedra Farmakologii, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, Kraków

<sup>2</sup>Instytut Farmakologii i Biochemii, NAS, Grodno

<sup>3</sup>Katedra Farmakologii, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, Kraków

<sup>4</sup>Zakład Farmakokinetyki i Farmacji Fizycznej, Wydział Farmacji, Uniwersytet Jagielloński, Kraków

<sup>5</sup>Katedra Patomorfologii, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, Kraków

**Tabela 1.** Korelacja pomiędzy D/H a oznaczonymi parametrami echokardiograficznymi

Echo parameter	r	p
LA diameter (A-P)	-0.51	0.002
LV diastolic diameter	-0.45	0.004
LV systolic diameter	-0.36	0.02
IVS	-0.22	NS
PW	-0.35	0.025
Relative wall thickness	0.09	NS
LV mass index	-0.52	0.0006
LV ejection fraction	0.24	NS
Circ. end systolic stress	-0.17	NS
E/A	-0.11	NS
E/e'	-0.06	NS
S/D	0.24	NS

**Wstęp:** N-metylotransferaza nikotynamidu (NNMT) jako cytoplazmatyczny enzym katalizujący reakcję N-metylacji nikotynamidu (NA) prowadzi do syntezy 1-metylnikotynamidu (MNA) i S-adenozynhomocysteiny (SAH). Jest enzymem wątrobowym mogącym odgrywać istotną rolę w procesach zapalnych wątroby u ludzi, w przypadku których wykazano, że aktywność NNMT wyraźnie wzrasta. W związku z działaniem przeciwzapalnym MNA, którego mechanizm zależy od PGI<sub>2</sub>, wzrost aktywności NNMT może pełnić rolę czynnika regulującego proces zapalenia wątroby.

**Cel:** Celem pracy była dokładna charakterystyka zmian aktywności szlaku NNMT-MNA w toku doświadczalnego zapalenia wątroby u myszy, w odniesieniu do rozwoju patologii zapalenia wątroby, jak również zbadanie korelacji pomiędzy zmianą aktywności szlaku NNMT-MNA a innymi parametrami uszkodzenia i zapalenia wątroby (parametry morfologiczne,

biochemiczne oraz markery stanu zapalnego). Celem doświadczeń było także wykazanie ochronnej roli podawanego egzogennie MNA na stopień uszkodzenia wątroby wywołanego przez ConA.

**Metody:** Stopień progresji patologii wątroby określono poprzez zmierzenie kinetyki uwalniania aminotransferazy alaninowej (ALT) we krwi, pomiar markerów stanu zapalnego (IL-6, INF $\gamma$ , TNF $\alpha$ , SAA) w osoczu oraz przeprowadzenie oceny histologicznej. Wszystkie pomiary wykonano w odpowiednich punktach czasowych (2, 8, 16, 24 h) po podaniu ConA (10 mg/kg, *i.v.*).

**Wyniki:** W badaniu stwierdzono wczesną aktywację odpowiedzi zapalnej (zależnej od cytokin TNF $\alpha$ , INF $\gamma$ , IL-6, SAA) występująca już po 2 h od podania ConA i wyprzedzającą zarówno wzrost poziomu ALT (8 h po podaniu ConA), jak i charakterystyczne dla zapalenia wątroby zmiany patologiczne (24 h po podaniu ConA). Ponadto wykazano ponad 2-krotny wzrost aktywności NNMT 8, 16 i 24 h po podaniu ConA i towarzyszącej temu zmiany stężenia endogennego MNA i jego metabolitów w osoczu. Jednocześnie pokazano, że egzogenne podawanie MNA (100 mg/kg, *i.v.*) znacznie zmniejsza śmiertelność i uszkodzenie wątroby, podczas gdy efekt ten jest odwracany za pomocą selektywnego antagonisty dla receptora PGI2 (RO 3244794, 10 mg/kg, *p.o.*).

**Wnioski:** Podsumowując, uzyskane wyniki sugerują, że NNMT ma swój udział w ostrym zapaleniu wątroby wywołanym przez ConA. Aktywność NNMT wyraźnie wzrasta w toku odpowiedzi zapalnej wątroby, co może stanowić mechanizm obronny odpowiedzi zapalnej tego narządu związany z działaniem naczynioprotekcyjnym MNA.

---

## 1001

### **Działanie przeciwmiażdżycowe kwasu nikotynowego oraz jego głównego metabolitu 1-metylonikotynamidu (MNA) w mysim modelu miażdżycy (myszy ApoE/LDLR/-)**

Łukasz Mateuszuk<sup>1</sup>, Mariusz Gajda<sup>2</sup>, Małgorzata Szafarz<sup>3</sup>, Magdalena Franczyk-Żarów<sup>4</sup>, Stefan Chłopicki<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Zakład Farmakologii Doświadczalnej, Katedra Farmakologii, Uniwersytet Jagielloński *Collegium Medium*, Kraków

<sup>2</sup>Katedra i Zakład Histologii, Uniwersytet Jagielloński *Collegium Medium*, Kraków

<sup>3</sup>Zakład Farmakokinetyki i Farmacji Fizycznej, Wydział Farmacji, Uniwersytet Jagielloński *Collegium Medicum*, Kraków

<sup>4</sup>Katedra Żywnienia Człowieka, Uniwersytet Rolniczy, Kraków

**Wstęp:** Kwas nikotynowy (NicA) obniża stężenie TG w osoczu i podwyższa stężenie HDL. W badaniach klinicznych wykazano przeciwwzapalną i naczynioprotekcyjną aktywność NicA niezależną od jego wpływu na profil lipidowy [1, 3] wynikającą prawdopodobnie z aktywacji specyficznych receptorów obecnych na powierzchni komórek układu immunologicznego [2]. Receptory te nie występują w komórkach ściany naczynia, można więc przypuszczać, że naczynioprotekcyjne działanie NicA zależy od jego endogennych metabolitów o działaniu śródłonkowym, powstających dzięki aktywności N-metylotransferazy nikotynamidu (NNMT).

**Cel:** Celem tej pracy było porównanie wpływu egzogenego NicA i jego głównego metabolitu 1-metylonikotynamidu (MNA) na miażdżycę i towarzyszący jej proces zapalny w mysim modelu miażdżycowym C57Bl/6J ApoE/LDLR/-.

**Metody:** Myszy ApoE/LDLR/- były karmione dietą wzbogaconą w liofilizat z żółtek kurzych i traktowane przez okres 2 miesięcy NicA lub MNA (100 mg/kg). Analizowano pole powierzchni blaszek miażdżycowych ( $\mu\text{m}^2 \times 10^5$ ) wewnątrz korzenia aorty (barwienie Oil Red O), pole powierzchni zajęte przez makrofagi i komórki mięśniówki gładkiej (barwienia IHC CD68 i SMA) oraz obszar aktywności MMP (zymografia żelowa). Dodatkowo w osoczu mierzono poziom białka amyloidowego SAA (techniką ELISA) oraz kwasu nikotynowego i jego pochodnych (LC/MS).

**Wyniki:** U myszy traktowanych NicA stwierdzono zmniejszony obszar zmian miażdżycowych ( $14,05 \pm 1,19$  v.  $18,97 \pm 1,88$ ;  $p \leq 0,05$ ), nieznacznie obniżony poziom makrofagów ( $4,21 \pm 0,81$  v.  $5,47 \pm 1,6$ ;  $p \geq 0,05$ ), zmniejszony obszar aktywności MMP ( $4,34 \pm 0,68$  v.  $6,13 \pm 2,0$ ) oraz podwyższony poziom nikotynamidu, MNA i jego metabolitów w osoczu w porównaniu z pozostałymi grupami ( $p \leq 0,05$ ). W grupie traktowanej MNA obszar zmian miażdżycowych był znacznie niższy ( $13,26 \pm 2,69$ ;  $p \leq 0,05$ ), nieznacznie niższy poziom makrofagów ( $4,14 \pm 0,27$ ;  $p \geq 0,05$ ), stwierdzono obniżoną aktywność MMP ( $2,63 \pm 0,64$ ;  $p \leq 0,05$ ), jak również spadek poziomu SAA ( $0,33 \pm 0,15$  v.  $1,0 \pm 0,34$   $\mu\text{g/ml}$ ;  $p \leq 0,01$ ).

**Wnioski:** W modelu ApoE/LDLR/- NicA i MNA mają porównywalne działanie przeciwmiażdżycowe, zbliżone do perindoprilu stosowanego w dawce subhipotensyjnej. Uzyskane wyniki mogą świadczyć o zależności aktywności przeciwmiażdżycowej egzogenego NicA od endogennego MNA syntetyzowanego przez NNMT.

1. Accinni R. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 16: 121–127;  
2. Offermanns S. *Trends Pharmacol Sci*, 27: 384–390;  
3. Thoenes M. *Int J Clin Pract*, 61: 1942–1948.

1002

### Czy uznane osoczowe markery charakteryzujące ogólnoustrojową gospodarkę żelazem są przydatne w ocenie zmian ładunku i metabolizmu żelaza w niewydolnym sercu?

Przemysław Leszek<sup>1</sup>, Barbara Sochanowicz<sup>2</sup>,  
Małgorzata Szperl<sup>1</sup>, Piotr Kolsut<sup>1</sup>, Tomasz Rywik<sup>1</sup>,  
Walerian Piotrowski<sup>1</sup>, Jacek Różański<sup>1</sup>, Bożena Danko<sup>2</sup>,  
Marcin Kruszewski<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institut Kardiologii, Warszawa

<sup>2</sup>Institut Chemii i Techniki Jądrowej, Warszawa

**Wstęp:** Korekta niedokrwistości i niedoboru żelaza (Fe) poprzez uzupełnienie Fe wydaje się przynosić obiecujące wyniki w leczeniu niewydolności serca (NS). Leczenie to prowadzone jest jedynie na podstawie oceny osoczowych markerów gospodarki żelazowej. Brakuje prac oceniających w NS poziom Fe, zmiany w ekspresji białek regulujących przemianami Fe oraz ich związek z osoczowymi markerami. Należy również pamiętać, że nadmiar źle zbuforowanego Fe może prowadzić do zwiększonej syntezy wolnych rodników, powodując szkodliwe efekty biologiczne.

**Cel:** Celem pracy była ocena zawartości Fe w niewydolnym miokardium (Fe-M) oraz poziomu ferrytyny (FR-M) i receptora transferyny (sTfR-M) w odniesieniu do uznanych osoczowych markerów gospodarki Fe. FR to główne białko wiążące Fe, gdy sTfR reguluje akwizycją jonów Fe.

**Metody:** Grupa badana to 33 pacjentów (pts) poddanych transplantacji serca (średni wiek 48 lat), w której oceniono parametry: Fe, FR, transferyna/saturacja (TSAT), sTfR w osoczu. W NS oceniono: Fe-M (*Neutron Activation Analysis* —  $\mu\text{g/g}$ ), FR-M, sTfR-M (ELISA —  $\text{ng/mg}$  białka), porównując do zdrowych serc (ZS, 11 pts).

**Wyniki:** Wyjściowo pacjenci NS: 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; NT-proBNP —  $5464 \pm 4825$  pg/ml; hsCRP —  $0,71 \pm 0,99$  mg/dl, TNF $\alpha$  —  $15,5 \pm 9,7$  pg/ml. W NS v. ZS stwierdzono obniżenie Fe-M w PK ( $174 \pm 45$  v.  $233 \pm 97$ ; odpowiednio  $p = 0,07$ ) i LK ( $189 \pm 57$  v.  $265 \pm 119$ ;  $p = 0,04$ ), bez zmian w ekspresji FR-M/sTfR-M. Między wszystkimi osoczowymi Fe markerami jedynie sTfR ujemnie korelowało z Fe-M w obu komorach (PK  $r = -0,44$ ;  $p = 0,03$ ; LK  $r = -0,38$ ;  $p = 0,07$ ). Na podstawie wartości TSAT pacjentów podzielono na: grupę z obniżonym osoczowym Fe (TSAT < 15%, 11 pts) oraz nieobniżonym Fe (TSAT > 15%, 22 pts). Obie grupy nie różniły się względem LK/PK, NT-proBNP, TNF $\alpha$ . Ekspresja FR-M była znacząco niższa w grupie TSAT < 15% v. TSAT > 15% (LK  $-30,46 \pm 26,31$  v.  $46,90 \pm 29,08$ ;  $p = 0,02$  i PK  $-23,71 \pm 24,12$  v.  $43,48 \pm 29,89$ ;  $p = 0,05$ ), bez istotnych zmian IR-M i sTfR-M.

**Wnioski:** W NS zawartość Fe w miokardium jest obniżona. Z wyjątkiem sTfR pozostałe osoczowe markery gospodarki żelazowej nie odzwierciedlają zawartości Fe w mięśniu sercowym. W grupie z obniżonym osoczowym poziomem Fe stwierdziliśmy w sercu zmniejszoną zawartość FR-M — głównego białka buforującego Fe. Spostrzeżenia te wydają się szczególnie istotne w kontekście coraz szerszego stosowania preparatów Fe, monitorowanego markerami osoczowym.

1004

### Ocena *in vitro* własności trombogennych pediatricznej komory wspomagania serca POLVAD-PED

Maciej Gawlikowski, Roman Kustosz, Karolina Gorka

Fundacja Rozwoju Kardiologii im. prof. Zbigniewa Religi, Zabrze

**Wstęp:** Głównym problemem związanym z urządzeniami VAD jest ryzyko wykrzepiania krwi. Symulacje numeryczne i fizyczne, badając strukturę przepływu i naprężenia ścinające, pozwalają na określenie obszarów protezy serca, predestynowanych do formowania się skrzeplin. Metody te pomijają jednak zjawiska związane z układem krzepnięcia. Uzyskiwane wyniki są niepewne, a ich weryfikacją jest długoterminowy eksperyment *in vivo*. Nowe podejście do oceny trombogenności wirowych pomp krwi zaproponował Schima (art. org. 1993; 17: 605–608). Podczas eksperymentu *in vitro* formowanie się skrzeplin jest w kontrolowany sposób przyspieszane poprzez utrzymywanie określonych parametrów krzepnięcia. Schima wykazał, że po kilkugodzinnym krążeniu skrzepliny tworzą się w tych samych miejscach co w analogicznych pompach stosowanych przez kilkanaście tygodni klinicznie lub w eksperymentach na zwierzętach.

**Cel:** Celem pracy było zbadanie własności trombogennych pozaustrojowej, pulsacyjnej, pediatricznej komory wspomaganie serca POLVAD-PED.

**Metody:** Badania wykonano na heparynizowanej (1,5–3,0 U/ml) krwi wieprzowej pobieranej podczas uboju. Krew krążyła w układzie *in vitro* zawierającym badaną pompę, monitorując co 20 min wartość ACT (aparat Hemochron Jr). Krążenie przerywano, gdy ACT mierzone w układzie osiągało wartość 1,5 razy większą niż bazowe ACT mierzone u zwierzęcia podczas pobrania krwi. Badania przeprowadzono na dwóch typach pomp: referencyjnej pompie wirowej (Medtronic BP80) i pulsacyjnej pompie pediatricznej POLVAD-PED. Parametry krążenia: F = 5 [L/min]; p = 100 [mm Hg] dla pompy BP80; F = 4,1 [L/min]; p = 90 [mm Hg] dla pompy POLVAD-PED.

**Wyniki:** Bazowe ACT wynosiło 72–103 s, a po heparynizacji 240–437 s. Podczas krążenia wartość ACT stopniowo spa-

dała i po około 4,5 h osiągała poziom właściwy dla przerwania doświadczenia. Ocena pompy BP80 wykazała obecność dwóch skrzeplin: w okolicy sprzęgła magnetycznego i w konektorze wlotowym. W pompie POLVAD-PED stwierdzono niewielkie skrzepliny na dyskach zastawek i w okolicy pierścienia membrany. Spadek liczebności płytek w krążącej krwi (o 31% dla pompy odśrodkowej i o 17% dla pulsacyjnej) korelował z wielkością skrzepliny.

**Wnioski:** Prezentowana procedura jest szybką i taną metodą oceny trombogenności wirowych i pulsacyjnych pomp krwi. Przeprowadzone badania wykazały dobre własności antytrombogeniczne komory POLVAD-PED. Lokalizacja nielicznych skrzeplin odpowiadała ich lokalizacji uzyskiwanej podczas klinicznego stosowania komór dla pacjentów dorosłych.

---

1005

### Model doświadczalny oceny funkcjonalnej pediatrycznej protezy wspomaganie serca w badaniach *in vivo*

Roman Kustos, Artur Kapis, Maciej Gawlikowski,  
Maciej Darlak, Karolina Gorka

Fundacja Rozwoju Kardiologii im. prof. Zbigniewa Religi, Zabrze

**Cel:** Celem doświadczenia jest ocena przedkliniczna poprawności funkcjonowania prototypu pozaustrojowej komory wspomaganie serca POLVAD-PED opracowanej dla dzieci w wieku 8–12 lat.

**Metody:** Jako zwierzęta modelowe do planowanych badań wybrano świnię, biorąc pod uwagę ich analogie anatomiczne serca i fizjologii krwi. Badania podzielono na 2 fazy: w fazie I badań doświadczalnych zostanie sprawdzona biokompatybilność i bezpieczeństwo krótkoterminowego wspomaganie serca protezą POLVAD-PED; w fazie II badań doświadczalnych zostanie sprawdzone bezpieczeństwo, skuteczność i stabilność długoterminowej pracy protezy POLVAD-PED, poprzez ocenę wpływu pracy pompy na krew i funkcję narządów oraz wpływu żywej krwi na powierzchnie wewnętrzne. Przebieg doświadczenia: szczegółowe wstępne przygotowanie zwierzęcia do doświadczenia; wstępna analgezyja zwierzęcia w celu wyeliminowania bólu i cierpienia zwierzęcia; pełne znieczulenie zwierzęcia metodą znieczulenia wziewnego połączonego z uzupełniającym znieczuleniem dożylnym wraz z założeniem monitorowania sygnałów biologicznych zwierzęcia: EKG i pomiary ciśnienia w tętnicy udowej, żyły szyjnej i tętnicy płucnej oraz pomiarem rzutu minutowego krwi; otwarcie klatki piersiowej oraz podłączenie pompy wspomaganie serca i uruchomienie jej działania; czasowe wspomaganie serca przez okres odpowiednio: 7 dni w fazie I oraz 30 dni w fazie II badań doświad-

czalnych wraz z prowadzeniem monitorowania parametrów hemodynamicznych zwierzęcia, parametrów biochemicznych, hematologicznych, układu krzepnięcia i hemolizy krwi oraz rejestracją parametrów pracy protezy; zakończenie doświadczenia — eutanazja zwierzęcia wraz z autopsją.

**Wyniki:** Założone rezultaty planowanego doświadczenia: uzyskanie wspomaganie serca wolnego od niebezpiecznego wykrzepiania krwi i kalcyfikacji na wewnętrznych powierzchniach protezy; uzyskanie akceptowalnego klinicznie poziomu wolnej hemoglobiny we krwi (< 30 mg/dl) przez cały okres prowadzenia wspomaganie serca; uzyskanie skutecznego i stabilnego wspomaganie serca przez cały okres doświadczenia na poziomie zaplanowanego nominalnego przepływu krwi dla systemu POLVAD-PED we wszystkich trybach pracy protezy.

**Wnioski:** Efektem zrealizowanych prac doświadczalnych będzie przygotowanie do badań klinicznych pediatrycznej protezy pozaustrojowego wspomaganie serca, posiadającej dzięki wykorzystaniu zaawansowanych technologii niską trombogenność i wysoką stabilność w długoterminowej pracy.

---

1007

### Upośledzenie czynności śródbłonkowego NO przez doxorubicynę w izolowanych krążkach aorty

Elżbieta Grochal, Valery Kozlovski, Stefan Chłopicki

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

**Wstęp:** Doxorubicyna (Dox), antybiotyk cytostatyk z grupy antracyklin, wykazuje dużą skuteczność w chemioterapii różnych typów nowotworów, która ograniczona jest jednak jej działaniem kardiotoksycznym. Wykazano bezpośredni wpływ Dox na czynność mitochondriów mięśnia sercowego i indukowanie apoptozy kardiomiocytów, jak też jej toksyczne działanie na komórki śródbłonka (EC) *in vivo* i w hodowli *in vitro*.

**Cel:** Celem pracy było opracowanie czynnościowego modelu dysfunkcji śródbłonka w izolowanych krążkach naczyńnych wywołanej krótkotrwałą inkubacją z Dox.

**Metody:** Izolowane krążki aorty szczura inkubowano 30 i 60 min w klasycznej łaźni wodnej z różnymi dawkami Dox oraz dla porównania menadionu (Men) i NaOCl, następnie oceniano wielkość rozkurczu naczyń zależnego od śródbłonkowego NO (wywołanego przez acetylocholinę — Ach) oraz niezależnego od śródbłonka (wywołanego przez nitroprusydek sodu — SNP).

**Wyniki:** Rozkurcz aorty wywołany przez Ach był całkowicie hamowany przez inhibitor syntazy NO L-NAME. Po 60 min

inkubacji z Dox w stężeniu 10, 50 i 100  $\mu\text{M}$  rozkurcz aorty w odpowiedzi na Ach (3  $\mu\text{M}$ ) wynosił odpowiednio 72, 52 i 14% v. 87% w warunkach kontrolnych, w odpowiedzi na SNP odpowiednio 103, 113 i 120%. Wykazano też bezpośredni wpływ Dox (100  $\mu\text{M}$ ) na mięśniówkę gładką widoczny przy 60-min, ale nie 30-min, inkubacji jako narastający skurcz aorty, osiągający 90–110% maksymalnego skurczu wywołanego przez 60 mM KCl (w krążkach  $\pm$  EC). Po 30 min inkubacji Dox i Men w dawce 100  $\mu\text{M}$  prowadziły do upośledzenia rozkurczu aorty wywołanego przez Ach: odpowiednio 65% i 23% v. 95% w warunkach kontrolnych, przy całkowitym zachowaniu odpowiedzi wywołanej przez SNP (0,01  $\mu\text{M}$ ). NaOCl w dawce 10  $\mu\text{M}$  wywołał upośledzenie odpowiedzi na Ach porównywalne z Dox 100  $\mu\text{M}$  (64%). Wstępne wyniki wskazują ponadto, że karbaprostacyklina (cPGI<sub>2</sub>, 1  $\mu\text{M}$ ), ale nie egzogeny NO (PAPA NO, 3  $\mu\text{M}$ ), zmniejsza upośledzenie śródbłonna wywołane przez Dox o ok. 20%.

**Wnioski:** Doxorubicyna wywołuje natychmiastowe upośledzenie czynności śródbłonkowego NO, którego nasilenie porównywalne jest z działaniem menadionu i NaOCl. Zaproponowany model pozwoli na badanie mechanizmów natychmiastowej dysfunkcji śródbłonna naczyń wywołanej przez chemioterapeutyki oraz na poszukiwanie farmakologicznych sposobów ochrony śródbłonna przed ich niekorzystnym działaniem.

## 1008

### Polimorfizmy wybranych genów związanych z rozwojem zespołu metabolicznego a poposiłkowe zmiany w gęstości LDL

Urszula Rażny<sup>1</sup>, Małgorzata Malczewska-Malec<sup>1</sup>, Iwona Wybranska<sup>1</sup>, Beata Kieć-Wilk<sup>1</sup>, Jadwiga Hartwich<sup>1</sup>, Jose López-Miranda<sup>2</sup>, Helen Roche<sup>3</sup>, Catrine Defort<sup>4</sup>, Aldona Dembińska-Kieć<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Zakład Biochemii Klinicznej, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, Kraków

<sup>2</sup>Reina Sofia University Hospital, Cordoba

<sup>3</sup>Nutri-genomics Research Group, UCD Conway Institute, University College Dublin, Belfield, Dublin

<sup>4</sup>INSERM, Marsylia

**Wstęp:** Stres oksydacyjny towarzyszący lipemii poposiłkowej, jak i małe gęste LDL (LDL fenotyp B) związane z rozwojem zespołu metabolicznego (MetS) i cukrzyca (Austin, 1991) stanowią czynnik ryzyka rozwoju chorób sercowo-naczyniowych (Berneis, 2004).

**Cel:** Celem pracy było zbadanie zależności pomiędzy polimorfizmami wybranych genów a fenotypem LDL u pacjentów z zespołem metabolicznym.

**Metody:** Analizę przeprowadzono w podgrupie polskich i hiszpańskich uczestników FW6 UE: *Lipgene Human Dietary Intervention Study* (n = 99) z zespołem metabolicznym (MetS). U pacjentów wykonano pomiary antropometryczne oraz parametry tolerancji glukozy, lipemii i fenotypowanie LDL przed i po obciążeniu doustnym testem tolerancji lipidów (lipemia poposiłkowa). Zależność pomiędzy genotypem (780 SNIPs 172 genów związanych z MetS badanych metodą mikromacierzy: GoldenGate Bead station 500G San Diego, Ca, USA) a zmianami fenotypu i gęstości LDL (fenotyp B) była badana przy użyciu testu Cochran-Armitage.

**Wyniki:** Fenotyp B LDL korelował z poziomem triglicerydów osocza (TG), ale nie z poziomem cholesterolu (TC). W porównaniu z fenotypem A, u osób z fenotypem B lipoproteiny LDL bogate w triglicerydy (TRL TG, TRL C), ApoB100, ApoB48, ApoCIII i glukoza miały wyższy poziom, gdy stężenie ApoA1 w osoczu było niskie. SNPs związane z fenotypem B obejmują grupy genów białek związanych z metabolizmem lipidów (ABCA1, ABCG4, APOA1, APOC3, APOE, APOH, CPT1A, LCAT, NFATC3, OLR1, PON1, PON2, PLA2G2, PPARGC1A), adipogenezą/procesem zapalnym (ACDC/ADIPOQ, ADIPOR, TNF) oraz z przekazem sygnału z receptora insuliny (CAPN10, IDE, IGF1R, INSR, SLC2A2/GLUT2, SLC2A4/GLUT4). U osób z fenotypem B LDL wśród genów reprezentujących ścieżkę metabolizmu lipidów, w większości 14/19 (SNPs 16/23) częściej występował allel występujący rzadziej w populacji (minor).

**Wnioski:** Największy wpływ na fenotyp LDL wywierają geny kontrolujące metabolizm lipidów i węglowodanów. W większości badanych genów allel minor był związany z wysoką gęstością LDL.

Badania finansowane przez: EU FP6 FOOD-CT-2003-505944 LIPGENE projekt.

## 1011

### Przeciwwzkrzepowy efekt eplerenonu u szczurów z cukrzycą

Agnieszka Zakrzaska<sup>1</sup>, Anna Gromotowicz<sup>1</sup>, Janusz Szemraj<sup>2</sup>, Piotr Szoka<sup>1</sup>, Milena Dąbrowska<sup>3</sup>, Ewa Chabińska<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Samodzielna Pracownia Biofarmacji, Uniwersytet Medyczny, Białystok

<sup>2</sup>Zakład Biochemii Medycznej, Uniwersytet Medyczny, Łódź

<sup>3</sup>Zakład Diagnostyki Hematologicznej, Uniwersytet Medyczny, Białystok

**Wstęp:** Cukrzyca oraz jej powikłania są jedną z pięciu najczęstszych przyczyn zgonów w krajach rozwiniętych oraz

jedną z głównych przyczyn zawałów serca, udarów mózgu i nagłej śmierci sercowej, a więc stanów, u podłoża których leży proces zakrzepowy. Udowodniono również, iż w cukrzycy dochodzi do istotnego wzrostu stężenia aldosteronu. Wykazaliśmy wcześniej prozakrzepowy efekt ostrej infuzji aldosteronu u szczura normotensyjnego częściowo zależny od udziału receptora mineralokortykoidowego (MR).

**Cel:** Celem niniejszej pracy było wykazanie przeciwzakrzepowego działania selektywnego antagonisty receptora MR — eplerenonu w powikłaniach zakrzepowych występujących w cukrzycy.

**Metody:** Badania wykonano na szczurach szczepu Wistar (300–350 g; n = 12–15) z cukrzycą w modelu zakrzepicy tętniczej. Cukrzycę wywołano dootrzewnowym podaniem streptozotocyny (65 mg/kg) i indukowano przez 5 tygodni.

**Wyniki:** Poziom glukozy w grupie zwierząt z cukrzycą był (300 mg/dl v. 70 mg/dl) zmiernie wyższy w porównaniu ze zwierzętami kontrolnymi. Eplerenon (EPL, 100 mg/kg) lub vehiculum (VEH, 5% roztwór gumy arabskiej) podawano *p.o.* przez 10 dni. Jedenastego dnia indukowano zakrzepicę tętniczą poprzez elektryczną stymulację prądem stałym tętnicy szyjnej (1 mA przez 10 min). Efekt przeciwzakrzepowy zbadano na podstawie pomiaru czasu do wystąpienia okluzji (całkowite zamknięcie naczynia), częstości występowania okluzji w tętnicy szyjnej oraz masy zakrzepu. Zmierzono także parametr hemostazy pierwotnej — czas krwawienia (BT) oraz wykonano badania układu krzepnięcia. U zwierząt z cukrzycą zaobserwowano skrócony czas do okluzji (4,8 min v. 12,5 min), zwiększoną częstość występowania okluzji w tętnicy szyjnej (100% v.

44%) oraz zwiększoną masę zakrzepu (1,2 mg v. 0,8 mg), a ponadto skrócony BT (80 s v. 108 s) w porównaniu ze zwierzętami normoglikemicznymi. EPL w porównaniu z VEH wydłużył czas do okluzji (7 min v. 4,8 min), ograniczył częstość występowania okluzji (83% v. 100%) oraz istotnie zmniejszył masę zakrzepu u zwierząt z cukrzycą (0,7 mg v. 1,2 mg). Ponadto w obrazie mikroskopowym zakrzep w grupie EPL charakteryzował się mniej zwartą strukturą względem grupy VEH, a także mniejszą zawartością elementów morfotycznych, głównie leukocytów. Obserwowano również nieznaczne wydłużenie BT i czasu trombinowego (TT) po podaniu EPL. W grupie zwierząt z EPL obserwowano nasilenie aktywacji układu krzepnięcia (wzrost TAFI i spadek t-PA) oraz zahamowanie układu fibrynolizy (spadek PAI-1) w porównaniu ze zwierzętami grupy kontrolnej.

**Wnioski:** Podsumowując, szczury z cukrzycą wykazują zwiększony potencjał prozakrzepowy w porównaniu ze zwierzętami normoglikemicznymi. Selektwna blokada receptora aldosteronowego eplerenonem wywołuje efekt przeciwzakrzepowy, wyrażony osłabionym formowaniem zakrzepu w modelu zakrzepicy tętniczej. Jednocześnie stanowi to dowód na udział aldosteronu w zakrzepowych powikłaniach u szczurów z indukowaną cukrzycą. Prowadzone są obecnie badania mające na celu określenie mechanizmu przeciwzakrzepowego działania eplerenonu w modelu cukrzycy indukowanej streptozotocyną.

*Praca współfinansowana ze środków Grantu ADAMED 2008.*

# Słowo od Zarządu Sekcji Kardiologii Eksperymentalnej PTK

1. Otrzymaliśmy 38 streszczeń. Według deklaracji autorów 26 prezentuje doniesienia w zakresie badań podstawowych w kardiologii eksperymentalnej. Pozostałe zadeklarowano jako eksperymenty w badaniach klinicznych. Każde streszczenie zostało ocenione w skali 1–5 przez co najmniej 3 recenzentów. Średnie oceny znalazły się w zakresie 2,67–5,00.
2. Podobnie jak w roku ubiegłym w czasie Sympozjum odbędzie się Sesja Nagrody Zarządu Sekcji Kardiologii Eksperymentalnej PTK. Wezmą w niej udział autorzy 8 najwyższej ocenionych streszczeń. Średnia ocen tych doniesień mieści się w zakresie 4,33–5,00. Laureat zostanie wybrany na podstawie oceny, na którą złożą się:
  - oceny recenzentów uzyskane w procesie kwalifikacji (1–5) — 50%;
  - oceny jury w czasie Sympozjum, obejmujące sposób prezentacji i jakość dyskusji (1–5) — 50%.
3. Fundatorem Nagrody jest Pfizer Polska Sp. z o.o.

## Lista streszczeń Sesji Nagrody Zarządu Sekcji Kardiologii Eksperymentalnej PTK

### 973. Mechanizm stresu oksydacyjnego i dysfunkcji śródbłonkowej w sercu świnek morskich z indukowaną cukrzycą

Anna Konior, Emilia Klemenska, Andrzej Beręsewicz  
Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa

### 978. Iwabradyna wywiera działanie przeciwaritmiczne w modelu świeżego zawału serca u szczura

Michał Mączewski<sup>1</sup>, Urszula Mackiewicz<sup>1</sup>, Joseph Y. Gerges<sup>2</sup>, Halina Dobrzynski<sup>2</sup>, Bohdan Lewartowski<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa  
<sup>2</sup>University of Manchester, Manchester

### 983. Cell penetrating protein [Lys(Ac)13]TP modulates phenylephrine vascular action

Ivan Kocić<sup>1</sup>, Jarosław Ruczyński<sup>2</sup>, Renata Szczepańska<sup>1</sup>, Mariola Olkowicz<sup>2</sup>, Brygida Parfianowicz<sup>2</sup>, Izabela Rusiecka<sup>1</sup>, Piotr Rekowski<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>Zakład Farmakologii, Gdański Uniwersytet Medyczny, Gdańsk  
<sup>2</sup>Wydział Chemii, Gdański Uniwersytet, Gdańsk

### 1001. Działanie przeciwmiażdżycowe kwasu nikotynowego oraz jego głównego metabolitu 1-metylonikotynamidu (MNA) w mysim modelu miażdżycy (myszy ApoE/LDLR<sup>-/-</sup>)

Łukasz Mateuszuk<sup>1</sup>, Mariusz Gajda<sup>2</sup>, Małgorzata Szafarz<sup>3</sup>, Magdalena Franczyk-Żarów<sup>4</sup>, Stefan Chłopicki<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Zakład Farmakologii Doświadczalnej, Katedra Farmakologii, Uniwersytet Jagielloński *Collegium Medicum*, Kraków  
<sup>2</sup>Katedra i Zakład Histologii, Uniwersytet Jagielloński *Collegium Medicum*, Kraków  
<sup>3</sup>Zakład Farmakokinetyki i Farmacji Fizycznej, Uniwersytet Jagielloński *Collegium Medicum*, Kraków  
<sup>4</sup>Katedra Żywnienia Człowieka, Uniwersytet Rolniczy, Kraków

### 1002. Czy uznane osoczowe markery charakteryzujące ogólnoustrojową gospodarkę żelazem są przydatne w ocenie zmian ładunku i metabolizmu żelaza w niewydolnym sercu?

Przemysław Leszek<sup>1</sup>, Barbara Sochanowicz<sup>2</sup>, Małgorzata Szperl<sup>1</sup>, Piotr Kolsut<sup>1</sup>, Tomasz Rywik<sup>1</sup>, Walerian Piotrowski<sup>1</sup>, Jacek Różański<sup>1</sup>, Bożena Danko<sup>2</sup>, Marcin Kruszewski<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>Instytut Kardiologii, Warszawa  
<sup>2</sup>Instytut Chemii i Techniki Jądrowej, Warszawa

### 1007. Upośledzenie czynności śródbłonkowego NO przez doxorubicynę w izolowanych krążkach aorty

Elżbieta Grochał, Valery Kozlovski, Stefan Chłopicki  
Zakład Farmakologii Doświadczalnej, Katedra Farmakologii, Uniwersytet Jagielloński *Collegium Medicum*, Kraków

### 1008. Polimorfizmy wybranych genów związanych z rozwojem zespołu metabolicznego a poposiłkowe zmiany w gęstości LDL

Urszula Rażny<sup>1</sup>, Małgorzata Malczewska-Malec<sup>1</sup>, Iwona Wybranska<sup>1</sup>, Beata Kieć-Wilk<sup>1</sup>, Jadwiga Hartwich<sup>1</sup>, Jose López-Miranda<sup>2</sup>, Helen Roche<sup>3</sup>, Catrine Defort<sup>4</sup>, Aldona Dembińska-Kieć<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Zakład Biochemii Klinicznej, Uniwersytet Jagielloński *Collegium Medicum*, Kraków  
<sup>2</sup>Reina Sofia University Hospital, Cordoba  
<sup>3</sup>Nutrigenomics Research Group, UCD Conway Institute, University College Dublin, Belfield, Dublin  
<sup>4</sup>INSERM, Marsylia

### 1011. Przeciwwzakrzepowy efekt eplerenonu u szczurów z cukrzycą

Agnieszka Zakrzaska<sup>1</sup>, Anna Gromotowicz<sup>1</sup>, Janusz Szemraj<sup>2</sup>, Piotr Szoka<sup>1</sup>, Milena Dąbrowska<sup>3</sup>, Ewa Chabielska<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Samodzielna Pracownia Biofarmacji, Uniwersytet Medyczny, Białystok  
<sup>2</sup>Zakład Biochemii Medycznej, Uniwersytet Medyczny, Łódź  
<sup>3</sup>Zakład Diagnostyki Hematologicznej, Uniwersytet Medyczny, Białystok