

congress
prague

98. fyziologické dny

7.–8. února 2023

2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy

V Úvalu 84, Praha 5

Pořadatel:

Ústav patologické fyziologie 2. lékařské
fakulty Univerzity Karlovy

Organizátor:

Congress Prague s.r.o.

www.fyziologickedny.cz

PARTNEŘI A VYSTAVOVATELÉ

MEDIÁLNÍ PARTNER A VYSTAVOVATEL

ANIMA  **LAB**



VYSTAVOVATEL

 **KRD**

Schoeller

Vážení přátelé,

Je mi ctí Vás přivítat na 98. Fyziologických dnech, které se uskuteční v tradičním termínu v Praze na 2. lékařské fakultě Univerzity Karlovy. Program je opět velmi pestrý a kromě velmi zajímavých odborných příspěvků se můžeme společně těšit i na společenský večer, který se bude konat na atraktivním místě s bohatou historií. Doufám, že během kongresu zapomeneme na pracovní a další starosti našich životů a užijeme si příjemnou a obohacující atmosféru tohoto tradičního setkání českých a slovenských fyziologů.

Za organizační výbor Vám přeje mnoho zážitků

prof. MUDr. Jakub Otáhal, Ph.D.

ZÁKLADNÍ INFORMACE

POŘADATEL:

Ústav patologické fyziologie 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy

VĚDECKÝ VÝBOR:

Předseda: prof. MUDr. Jakub Otáhal, Ph.D.

prof. MUDr. Jaroslav Pokorný, DrSc.

prof. MUDr. Romana Šlamberová, Ph.D.

prof. PharmDr. Alena Sumová, DSc.

doc. MUDr. Vladimír Riljak, Ph.D.

ORGANIZÁTOR:

Congress Prague s.r.o.

Na Celné 826/8, 150 00 Praha 5

+420 241 445 759

www.congressprague.cz

office@congressprague.cz

Odpovědný zástupce za organizační zajištění kongresu:

Petra Skalová

tel. +420 774 923 353

email: petra.skalova@congressprague.cz

Koordinátor pro partnery a vystavovatele:

(farmaceutické společnosti):

Bohumil Sedlák

tel. +420 605 781 945

email: exhibitors@congressprague.cz

Koordinátor pro registrace a ubytování:

Nikola Houdková

Tel. +420 607 948 924

email: nikola.houdkova@congressprague.cz

DOPROVODNÝ PROGRAM

Společenský večer 7. února 2023, 19:00

Pivovar Sv. Norberta naleznete jen pár kroků od Pražského hradu, ukrytý v příjemném historickém areálu Strahovského kláštera. Pivovar má bohatou historii sahající až do 13. století. Činnost pivovaru byla sice v roce 1907 ukončena, avšak po pečlivé rekonstrukci celého areálu pivovar znovu otevřel své brány návštěvníkům v roce 2000. Dnes zde můžete ochutnat více než 25 druhů řemeslných piv. Interiéru restaurace vévodí obří pivovarské kotle a další stylové vybavení.

Společenský večer není součástí programu kongresu a koná se v čase mimo program. Pro účast na společné večeři je nezbytné si koupit vstupenku. Vstupenku si můžete koupit předem v rámci registrace, prostřednictvím on-line formuláře na webových stránkách kongresu nebo na místě v registračním centru.

PRAVIDLA PRO ÚČAST

- Vstup na kongres a doprovodnou výstavu firem je možný výlučně na základě platné registrace.
- Registrační průkaz obdrží každý registrovaný účastník při vstupu na kongres.
- V pracovní době kongresu je účastníkům k dispozici šatna s obsluhou.
- V mimopracovní době jsou kongresové sály uzavřeny. Nenechávejte v prostorách kongresových sálů a doprovodné výstavy osobní věci, pořadatelé ani organizátor kongresu nenesou odpovědnost za jejich poškození nebo ztrátu.
- Věci vnesené a používané v průběhu kongresu v konferenčních prostorách nejsou předmětem pojištění.
- Účast na kongresu, činnost a pohyb ve vyhrazených kongresových prostorách nejsou předmětem pojištění osob.
- Ve všech prostorách vyhrazených pro kongres je přísný zákaz kouření. Prosíme, respektujte toto pravidlo.
- Bez výslovného souhlasu pořadatele nebo organizátora není v rámci prostor konání kongresu dovoleno pořizovat záznamy (zvukem, obrazem).



Komplexní řešení pro fyziologické pokusy na laboratorních zvířatech

- Měření krevního tlaku
- Měření teploty
- Pulzní oxymetrie
- Průtok krve a okysličení
- Anestezie
- Telemetrie
- Optogenetika
- Složení těla
- Metabolismus
- Tkáňová patologie





Vybavení pro laboratoře

Laboratorní přístroje a vybavení

příprava, ochrana, kultivace, analýza a skladování vzorků
centrifugace, laminární a ochranné boxy, hypoxické a anaerovny boxy, ohřev a kultivace,
mrazicí a chladicí zařízení, readey a bioimaging, koncentrátoři a lyofilizátory, myčky,
sterilizace, dekontaminace, autoklávy, spotřební materiál



BAKER



**ThermoFisher
SCIENTIFIC**



Přístroje a vybavení pro laboratorní chovy

bariérové technologie, IVC a konvenční chovy, analýza,
mytí a dekontaminace, logistika, IVC technologie, izolátory,
technologie pro chov ryb a obojživelníků, technologie simulace prostředí,
analýza a digitální technologie chovů, metabolické a konvenční nádoby,
přestýlací a laminární boxy, prokládací boxy, technologie pro welfare, myčky,
dekontaminační komory, vzduchové sprchy

Vybavení pro zvěřince



BAKER



TECNIPLAST
TECHNOLOGIE PRO ZVĚŘINCE

www.trigonplus.cz

prodej
aplikační podpora

autorizovaný
servis

validace
prevence

akreditovaná
kalibrační a zkušební
laboratoř

PROGRAM KONGRESU

ÚTERÝ 7. ÚNORA 2023

08:30	Registrace účastníku, vyvěšení posterů
Místo konání:	Velká posluchárna
10:00-10:15	Slavnostní zahájení
10:15-11:00	Purkyňova přednáška Sepse v experimentu: od patofyziologie k potenciální terapii <i>prof. MUDr. Milan Štengl, Ph.D.</i>
11:00-11:30	Pedagogická přednáška Koncepte Evropských univerzit a moderního univerzitního vzdělávání <i>prof. MUDr. Přemysl Jiruška, Ph.D.</i>
11:30-11:40	Physiological Research <i>MUDr. Jozef Zicha, DrSc.</i>
11:40	Focení
11:45	Plenární schůze ČFS
Místo konání:	Malá levá posluchárna
11:45	Plenární schůze SFS
Místo konání:	Místnost SP1
12:15	Redakční rada PhysRes

ODBORNÝ PROGRAM – VELKÁ POSLUCHÁRNA

13:00-14:30	NEURO I Předsedající: Jiruška Přemysl, Zeman Michal Sdělení: 10 min + 5 min diskuze Interiktální elektrografická aktivita v modelu epilepsie na podkladě fokální kortikální dysplázie typu II Chvojka Jan
-------------	---

**Dlouhodobá dynamika epileptických záchvatů
a interiktální EEG aktivity**

Kudláček Jan
Soutěž mladých ČFS

**Abnormální aktivita mutovaných neuronů v fokálně
kortikální dysplázii**

Nguyenová Minh Tao

Autonomic Dysfunction during convulsive seizures in rats

Pant Aakash

**In vitro metody charakterizace buněčného metabolismu pro
personalizovanou diagnostiku epileptogenních mutací**

Danačíková Šárka

**An effect of Sulforaphane on cerebral blood flow and
electrophysiological parameters in adult rats**

Daněk Jan

14:30-15:00

Coffee break + Diskuze k posterům

15:00-16:45

NEURO II

Předsedající: Šlamberová Romana, Čalkovská Andrea
Sdělení: 13 min + 2 min diskuze

**Translační výzkum aneb fyziologie 21.století – možnosti lokalizace
epileptogenní tkáně pomocí MRI**

Otáhal Jakub

**Protonová radioterapie a její specifika v léčbě nádorů mozku
u pacientů dětského věku**

Jurášek Bruno

**Vliv přítomnosti edému na rekonstrukci nervových drah pomocí
magnetické rezonance u pacientů po cévní mozkové příhodě**

Kala David

Klasifikace mutace IDH v gliomech pomocí ASL a DSC MRI

Prsyaszniuk Yeva
Soutěž mladých ČFS

**Acetazolamidem indukovaná změna hemodynamiky mozkové tkáně
v experimentálním modelu fokální kortikální dysplazie**

Svoboda Jan

**Sérové biomarkery poškození u hypoxicko-ischemické
encefalopatie novorozenců**

Tefr Faridová Adéla

Neurogenéza a cirkadiánný systém

Hodová Vladimíra

19:00

Společenský večer
Pivovar St. Norbert – Strahov

ODBORNÝ PROGRAM – MALÁ LEVÁ POSLUCHÁRNA

13:00-14:00

KARDIO I

Předsedající: Nováková Marie, Javorka Kamil
Sdělení: 10 min + 5 min diskuze

Oxid dusnatý v kardioprotekci neonatálního srdce
Doul Jan

Účinky kvercetínu na fyziologické funkcie srdca, hypertofickú remodeláciu a odolnosť voči ischemicko-reperfúznemu poškodeniu u diabetických potkanov 2. typu kmeňa ZDF
Ferenczyová Kristína

Pokles aktivity sympatikového nervového systému u hypertenzných potkanov odchovaných náhradnou normotenznou matkou
Babaríková Katarína
Soutěž mladých SFS

Vplyv antagonistu mineralokortikoidných receptorov na inverzný 24-hod profil tlaku krvi u hypertenzných trasgénnych (mRen-2)27 potkanov s dôrazom na úlohu obličiek
Šutovská Hana
Soutěž mladých SFS

14:00-15:00

Coffee break + Diskuze k posterům

15:00-16:45

VARIA I

Předsedající: Babula Petr, Herichová Iveta
Sdělení: 10 min + 5 min diskuze

Komparatívna analýza kolorektálneho karcinómu s využitím zymografie
Večurková Ivana
Soutěž mladých SFS

Vplyv fotobiomodulačného žiarenia na bunky fibroblastov v procese fotodynamickej terapie
Olejárová Soňa

Vliv cystathionin- β -syntázy na organizaci cytoskeletu a modulaci karcinogenezi v buňkách kolorektálního karcinomu
Lišková Veronika

Úloha transportu vápnika v tumorigenéze

Križanová Olga

Pomalý sulfidový donor GYY4137 posilňuje účinok paklitaxelu v bunkách kolorektálneho karcinómu

Chovancová Barbora

Účinky miR-34a-5p na expresiu komponentov cirkadiálneho oscilátora v bunkovej línii kolorektálneho karcinómu DLD1 sú modulované 2.4 GHz žiarením

Herichová Iveta

Stéroidy ľudského glioblastómu U87MG na modeli prepeličej chorioalantoickej membrány ako predklinický model pri štúdiu fotodynamickej terapie

Máčajová Mariana

19:00

Spoločenský večer

Pivovar St. Norbert – Strahov

STREDA 8. ÚNORA 2023

ODBORNÝ PROGRAM – VELKÁ POSLUCHÁRNA

9:00-10:30

RESP I

Předsedající: Hampl Václav, Vlková Barbora

Sdělení: 10 min + 5 min diskuze

Hypoxia-inducible factors activator, roxadustat, increases pulmonary vascular resistance in rats

Hampl Václav

Advance in the research of the relaxant effect of pulmonary surfactant on airway smooth muscle using atomic force microscope

Hanusrichterová Juliana

Soutěž mladých SFS

Metabolomické rozdiely medzi pohlaviami v experimentálnom modeli astmy

Barošová Romana

Soutěž mladých SFS

Terapeutická účinnosť budesonidu aplikovaného bolusovo do pľúc pomocou vysokofrekvenčno-oscilačnej ventilácie u experimentálneho modelu závažného ARDS

Nemcová Nikolett

Soutěž mladých SFS

Trauma decreases neutrophil infiltration in bacterial lung infection

Vlková Barbora

Expression of chosen genes in wounds treated with two different approaches

Babula Petr

10:30-11:00

Coffee break + Diskuze k posterům

11:00-12:30

NEURO III

Předsedající: Rokyta Richard, Babinská Katarína

Sdělení: 10 min + 5 min diskuze

Markery inhibičnej neurotransmisie v modeloch neurovývinových ochorení

Bakos Jan

Effect of repeated royal jelly administration on the excitability of central serotonergic neurons in rats

Daniil Granchii

Fibroblast growth factor two (FGF2) alters the excitability of central serotonergic and dopaminergic neurons in rats: relevance for the alcohol use disorder

Dremencov Eliyahu

Soutěž mladých ČFS

Topické podanie BDNF a jeho indukčného faktoru VGF zmiernuje zápalové prejavy experimentálnej autoimunitnej uveoretinitídy

Zloh Miroslav

Soutěž mladých ČFS

Internacionalizácia ako inovatívny prvok vo výučbe medicíny

Babinská Katarína

Vzťah neurogenézy a variability spevu spevavcov

Niederová Ľubica

12:30-13:30

Obědová pauza + Diskuze k posterům

13:30-14:30

NEURO IV

Předsedající: Pokorný Jaroslav, Okuliarova Monika

Sdělení: 10 min + 5 min diskuze

Mozkový perfuzní tlak – výsledky dlouhodobého kontinuálního monitorování středního arteriálního tlaku, intrakraniálního tlaku a videozáznamu u volně pohyblivých laboratorních potkanů

Kozler Petr

Nefarmakologické metody v léčbě bolesti

Rokyta Richard

Age-related behavioral characteristics of Wistar rats

Sušienková Petronela

Soutěž mladých SFS

Long-term cafeteria diet changes the rat brain

Szabó Jakub

Soutěž mladých SFS

14:45

Slavnostní ukončení

ODBORNÝ PROGRAM – MALÁ LEVÁ POSLUCHÁRNA

09:00- 10:30

VARIA II

Předsedající: Celec Peter, Kodrík Dalibor

Sdělení: 10 min + 5 min diskuze

Extracellular DNA decreases after treatment of rheumatoid arthritis

Celec Peter

**Metabolic effects of biologic anti-inflammatory treatment
in rheumatoid arthritis**

Macáková Kristína

Soutěž mladých SFS

**Neutrophil phenotype and behavior vary based
on the isolation method**

Bečka Emil

Soutěž mladých SFS

**Množstvo cirkulujúcich mikročastíc v plazme zdravých jedincov
je závislé od veku a pohlavia**

Janko Jakub

Soutěž mladých SFS

**Multifunkčnost hmyzích vitellogeninů: jejich úloha
v obranných reakcích**

Kodrík Dalibor

**Chronodisruptívny účinok svetelnej kontaminácie v noci
na akútnu zápalovú odpoveď potkana**

Okuliarova Monika

10:30-11:00

Coffee break + Diskuze k posterům

11:00-12:30

KARDIO II / METABO II

Předsedající: Kittnar Otomar, Švorc Pavol

Sdělení: 10 min + 5 min diskuze

Je příjem vitamínů českých těhotných žen dostatečný?

Kovařík Miroslav

Timené svetlo v noci významne narúša denné rytmy metabolizmu

Rumanová Valentína Sophia

Soutěž mladých SFS

Chronodisruption during early developmental periods affects metabolism and cardiovascular system functioning later in adulthood in a sex-dependent manner

Semenovych Kateryna

HRV u potkana

Švorc Pavol

Vysoký „fitness age“ jako rizikový faktor morbidity a předčasné mortality

Novák Jaroslav

Využití telemedicíny v prenatální péči

Heřman Hynek

12:30-13:30

Obědová pauza + Diskuze k posterům

13:30-15:00

METABO I

Předsedající: Červinková Zuzana, Pecháňová Olga

Sdělení: 10 min + 5 min diskuze

Úloha chronodisrupcie v etiopatogenéze metabolického syndrómu

Zeman Michal

Kombinovaná terapia na nanočastice viazaného simvastatínu a CoQ10 up-reguluje dráhu Akt-eNOS pri experimentálnom metabolickom syndróme

Pecháňová Olga

Vplyv patologických stavov spojených s rozvojom diabetu a účinkami doxorubicínu na matrixové metaloproteinázy

Bořanská Barbora

Využití magnetické rezonance ke kvantifikaci tuku a steatózy ve slinivce břišní u pacientů po bariatrické operaci

Bužga Marek

Vliv bariatricko-metabolické chirurgie na složky metabolického syndromu a změny tukové tkáně u osob s obezitou III. stupně

Bužga Marek

Obesity-associated metabolic syndrome and low-grade inflammation induced by long-term consumption of a cafeteria diet in female rats

Feješ Andrej

Soutěž mladých SFS

POSTEROVÁ SEKCE

1. Změny exprese miRNA v průběhu rozvoje antracyklinové kardiomyopatie u králíka
Adamcová Michaela

2. Vplyv polyfenolu EGCG na zápalové a včasné fibrotické zmeny v animálnom modeli silikózy
Adamčáková Jana

3. Vplyv remote ischemického preconditioningu na kardioprotektívnu reguláciu mitochondriálneho proteómu
Andelová Natália

4. The slow-releasing hydrogen sulfide donor, GYY4137, and its vasoactive effect in mesenteric artery
Aydemir Basak Gunes

5. Shank3 deficit je sprevádzaný zmenami markerov inhibičnej neurotransmisie a správania v adolescencii u myšacieho modelu
Bačová Zuzana

6 Kardiovaskulární systém u pacientek s triple negativním karcinomem prsu před zahájením antracyklinové léčby
Bartáková Anna

7. Vplyv quercetínu na renálnu Na,K-ATPázu u potkanov kmeňa ZDF
Barteková Monika

8. Efekt akútneho stresu na exekutívne funkcie nadaných detí
Belica Ivan

9. Vplyv tlmeného osvetlenia počas noci na časovo regulované zmeny lipidového metabolizmu počas zápalu
Benediková Beáta

10. **Účinok zofenoprilu, H2S uvoľňujúceho inhibítora ACE, na kardiovaskulárny systém spontánne hypertenzných potkanov v podmienkach inhibície ACE2**
Čačányiová Soňa
11. **Vliv prostředí na hipokampální regulační proteiny dospívajících potkanů neonatálně vystavených metamfetaminu**
Čechová Barbora
12. **Ketogenic diet mitigates pathological manifestations of TMEM70 deficiency in mouse knockout model**
Červinková Zuzana
13. **Terapeutický účinok transplantácie ľudskej fekálnej mikrobioty na priebeh experimentálnej kolitídy: predklinická štúdia na pseudo germ-free animálnom modeli**
Demečková Vlasta
14. **Circadian clocks in choroid plexus and its sensitivity to chronodisruption**
Drapsin Milica
15. **Daktyloskopická analýza druhostupňových útvarov (minúcií) u chlapcov s poruchou autistického spektra**
Dukonyová Dóra
16. **Vplyv chronickej aplikácie flavonoidu kvercetínu na ischemicko-reperfúzne poškodenie srdca u hypertenzných potkanov kmeňa SHR**
Duřová Ulrika
17. **Telmisartan – ligand nukleárných receptorů?**
Dušek Jan
18. **Oxid dusnatý ako jeden zo spúšťacích faktorov kardioprotektívneho účinku remote ischemického preconditioningu**
Farkašová Veronika
19. **Vplyv reaktívnych foriem síry na dýchanie mitochondrií pečene potkana**
Grman Marián
20. **Účinok GABA neurotransmitera na rast a morfológiu neuronálnych buniek**
Havranek Tomas
21. **Vplyv tmeného svetla počas noci na počet a aktivitu imunitných buniek v cirkulácii a obličkách počas fruktózou-indukovanej metabolickej záťaže**
Jerigová Viera
22. **Účinnosť kombinovanej terapie exogénnym surfaktantom s intravenózne podaným N-acetylcysteínom v ARDS modeli dvojitého poškodenia pľúc u potkanov**
Kolomazník Maroš
Soutěž mladých SFS

23. Hormóny štítnej žľazy ako korelát jadrových príznakov u detí s poruchami autistického spektra

Kopčíková Mária

24. Validácia klinicky relevantného závažného poškodenia pľúc u zvierat indukovaného aspiráciou kyseliny s následnou vysokoobjemovou ventiláciou pomocou zápalových a respiračných parametroch

Kosutova Petra

25. Redukcia krátkovlnového svetla počas dňa neovplyvnila koncentráciu melatonínu u človeka

Kováčová Katarína

26. Effect of fecal microbial transplantation on early neuromotor development in the genetic mouse model of autism

Kováčová Nikola

Soutěž mladých SFS

27. Úloha neuronů neusoucích mTOR mutaci v iktogenezi na podkladě fokální kortikální dysplázie

Králíková Michaela

28. Dermatoglyphic Asymmetry in Boys with Autism Spectrum Disorders and prenatal testosterone exposure in relation to hand development

Kyselíková Klaudia

29. Identifikácia jedincov s možnou predispozíciou k hypertenzii na základe skríningu zmien tlaku krvi za bazálnych podmienok, v priebehu a po skončení ergometrického vyšetrenia

Martišková Adriana

30. Chorioalantoická membrána prepelice japonskej ako in vivo model mikrobiálnej infekcie

Meta Majlinda

31. Vplyv Shank3-deficiencie na GABAergické synapsie v oblasti čuchového bulbu

Mihalj Denisa

32. Povrchová Aktivita a Terapeutická Účinnosť Syntetického Surfaktantu s Rekombinantným Combo Peptidom Kombinujúcim Vlastnosti SP-B a SP-C pri Experimentálnom Syndróme Respiračnej Tiesne

Mikolka Pavol

33. Matematický model jako nástroj pro vysvětlení účinků látek na mechanickou restituci kardiomyocytu morčete

Nováková Marie

- 34. Methylfenidát potlačuje mechanickou a chladovou alodynii u potkanů s periferní neuropatickou bolestí**
Panušková Kristýna
- 35. Sledovanie účinnosti podávania molekulárneho vodíka inhaláciou a pitím obohatenej vody pri liečbe žiarením vyvolaného poškodenia srdca**
Pavelková Patrícia
- 36. Zapojenie redoxnej signalizácie a autofágie do mechanizmov zahrnutých v odpovediach buniek HEK293 na účinky doxorubicínu**
Pecníková Viktoria
- 37. Anorexigenic effect of peripherally applied palmitoylated prolactin-releasing peptide (palm-PrRP31) in wild type and G-protein coupled receptor (GPR10) deficient female mice**
Pirník Zdenko
- 38. Metody detekce myelinu pomoci MRI**
Pokošová Pavlína
- 39. Vzťah kopeptínu k teórii mysle, intelektu a jadrovým príznakom u detí s poruchou autistického spektra**
Polónyiiová Katarína
- 40. Vliv měsíčního pobytu v Dětské léčebně Křetín na stav výživy a kardiovaskulární zdraví dětí a dospívajících s alimentární obezitou**
Rafčíková Natálie
- 41. Melatonín ako korelát exekutívnej dysfunkcie u detí s poruchami autistického spektra**
Rašková Barbora
- 42. Vede časná sociální izolace u potkana k amplifikaci nežádoucích účinků haloperidolu na srdce?**
Stračina Tibor
- 43. Účinky kvercetínu na vybrané kardiovaskulárne parametre a ischemicko-reperfúzne poškodenie srdca u starnúcich potkanov**
Strapec Jakub
- 44. Vplyv kyseliny gyroforovej na fyziológiu laboratórných potkanov**
Šimko Patrik
- 45. Paternitní podávání metamfetaminu nezpůsobuje tak závažné negativní účinky na potomstvo potkanů během vývoje a v dospělosti jako podávání matkám**
Šlamberová Romana

46. Vizuali stimalace aktivuje osu hypothalamus-hypofýza-nadledviny a nabízí možnost pro modulaci imunitních procesů

Štofková Andrea

47. Diastolická funkce srdce stanovená echokardiograficky nebo aplanační tonometrií u pacientů po antracyklinové terapii

Šudáková Magdaléna

48. Rozdiely v hladinách taurínu, betaínu a dalších organických osmolytov v tkanivách laboratorných hlodavcov

Tomášová Lenka

49. Manifestation of sympathoadrenergic activity in mesenteric arteries of rats with different predisposition to obesity: Effect of perivascular adipose tissue

Török Jozef

50. Variabilita dychového vzoru u mladých obézných pacientov

Turianiková Zuzana

51. Kyselina gyroforová, sekundárny metabolit lišajníkov, pôsobí ako antioxidant a stimuluje hipokampálne progenitory počas depresii podobných stavov laboratorných potkanov

Urbanská Nicol

52. Vplyv trimetylcínu a handlovania na Na,K-ATPázu v mozgovej kôre potkanov

Vlkovicova Jana

NEURO I

INTERIKTÁLNÍ ELEKTROGRAFICKÁ AKTIVITA V MODELU EPILEPSIE NA PODKLADĚ FOKÁLNÍ KORTIKÁLNÍ DYSPLÁZIE TYPU II

Chvojka J.^{1,2,3}, Procházková N.¹, Řehořová M.¹, Kudlacek J.^{1,2,3}, Novák O.¹, Jiruška P.^{1,2}

¹Druhá lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha

²Fyziologický ústav Akademie věd České republiky, Praha

³Fakulta elektrotechnická, ČVUT, Praha

Motivace: Fokální kortikální dysplázie (FCD) je lokalizovaná, vysoce epileptogenní malformace mozkové kůry, která je velmi častou příčinou farmakorezistentní epilepsie. Charakteristickým elektrografickým projevem epileptické tkáně jsou kromě epileptických záchvatů také interiktální epileptiformní výboje (IED) a patologické vysokofrekvenční oscilace (pHFO). Především pHFO jsou považovány jako hlavní ukazatel epileptogenní tkáně či zóny počátku záchvatu. Vztah mezi pHFO a FCD doposud není vyjasněný. V této studii jsme se zaměřili na popis vlastností interiktální elektrografické aktivity v chronickém modelu FCD a schopnost FCD generovat pHFO.

Metody: FCD byla indukována in utero elektroporací (n=8) p.Leu2427Pro mutace genu mTOR, jež byla nalezena v lidské fokální kortikální dysplázií typu IIb. U kontrolních zvířat (n=4) byl elektroporován pouze reportérový gen pro GFP. Ve věku 8-10 týdnů od narození byly zvířatům implantovány epidurální elektrody do oblasti FCD a nelezionálních oblastí obou hemisfér. Ve věku 9-11 týdnů byla zvířata video-EEG monitorována minimálně po dobu 14 dní. EEG v délce 2 h měřené ob den v rozmezí od 10 do 15h bylo manuálně očištěno od artefaktů a podrobena detekci interiktálních epileptiformních výbojů (IED) metodou odhadu distribuce statistické obálky signálu. Patologické oscilace byly detekovány v pásmech gamma-ripples (pGRO, 45-250 Hz) i v pásmu fast-ripples (pFRO, 300-800 Hz) metodou prahování energetické obálky v okolí do 200 ms od IED.

Výsledky: FCD zvířata měla signifikantně vyšší četnost pFRO (0.05 ± 0.16 událostí/min) oproti kontrolním zvířatům (0.0016 ± 0.0012 událostí/min ; SEM; p<0,01, Wilcoxonův test). Četnost pGRO byla vyšší u FCD zvířat (0.011 ± 0.031 událostí/min) v porovnání s kontrolními zvířaty (0.00016 ± 0.00011 ; SEM; p<0,05, Wilcoxonův test). V četnosti IED mezi oběma skupinami nebyl nalezen signifikantní rozdíl. V rámci FCD zvířat byla četnost pGRO i pFRO signifikantně vyšší v lézi v porovnání s oblastí mimo lézi (p<0,05, Wilcoxonův test). Frekvence pGRO oscilací byla zvýšena v lézi (72.4 ± 7.5 Hz; SEM) v porovnání s oblastí mimo lézi (60.3 ± 5.2 Hz ; SEM). V případě pFRO se frekvenční profil oscilací v lézi a mimo lézi nelišil.

Závěr: Naše práce prokázala, že FCD generuje celé spektrum pHFO sahající od patologických gamma-ripple oscilací (pGRO) až po patologické fast-ripple oscilace (pFRO). Patologické HFO z obou studovaných frekvenčních pásem dále měly lokalizační výpovědní hodnotu, neboť byly studovány v FCD lézi. Studie potvrdila vyšší specificitu pHFO v lokalizaci epileptogenní léze v porovnání s tradičními IED. Důkaz existence pHFO v rámci epilepsie na podkladě FCD má význam také pro pochopení funkční

organizace FCD, která je klíčová pro zkvalitnění chirurgické léčby tohoto typu epilepsie. Podpořeno granty Agentury zdravotnického výzkumu MZ ČR (NU21-08-00533, NU21-04-00601), Grantové agentury České republiky (20-25298S, 21-17564S), Grantové agentury Univerzity Karlovy a Primus Univerzity Karlovy

DLOUHODOBÁ DYNAMIKA EPILEPTICKÝCH ZÁCHVATŮ A INTERIKTÁLNÍ EEG AKTIVITY

Kudláček J., Chvojka J., Búran P., Pošusta A., Ravi, T., Novák O., Procházková N., Řehořová M., Balašík M., Otáhal J., Jiruška P.

2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Praha

Úvod: Již mnoho desítek let je známo, že epileptické záchvaty nevznikají v čase úplně náhodně, ale mají tendenci se shlukovat. Shluky přicházejí často kvaziperiodicky. V posledním desetiletí umožnil technologický rozvoj chronickou implantaci miniaturních EEG přístrojů pro dlouhodobý záznam u pacientů s refrakterní epilepsií. Takto získaná data ukazující vztah mezi dlouhodobými fluktuacemi interiktální aktivity a záchvaty. Tento vztah by mohl být dokonce využitelný pro předpovídání rizika epileptických záchvatů. Zkoumali jsme, zda podobný vztah mezi interiktální aktivitou a záchvaty vykazují i myši s epilepsií na podkladě fokální kortikální dysplázie.

Metody: Plazmid obsahující lidský mTOR s mutací p.Leu2427Pro byl in utero injikován do laterální komory a elektroporován myším v embryonálním věku 14,5 dne. Po narození tyto myši vykazovaly fokální kortikální dysplázi a rozvinuly epileptické záchvaty. Dvanácti z nich byly implantovány epidurální elektrody a byly video-EEG monitorovány 36 ± 26 dní (průměr \pm směrodatná odchylka).

Výsledky: U všech myší jsme pozorovali dlouhodobé fluktuace v interiktální aktivitě a frekvenci výskytu záchvatů. U 10/12 myší byly zřetelné shluky záchvatů v čase. Interiktální aktivita fluktovala s periodou 3 až 9 dní. Během shluků záchvatů interiktální aktivita narůstala a po skončení shluku pomalu po dobu 2 až 4 dní klesala zpět na původní hodnotu. Během delších období bez záchvatů však interiktální aktivita spontánní fluktuace nevykazovala. Většina záchvatů vznikla v období, kdy interiktální aktivita byla v rostoucí fázi ($81 \pm 4\%$, $N = 12$ myší, průměr \pm chyba průměru). Analyzovali jsme také, zda dochází k charakteristickému trendu v interiktální aktivitě před příchodem každého záchvatu a žádný takový trend jsme nenašli.

Závěr: U myšího modelu fokální kortikální dysplázie se interiktální aktivita zvyšuje po záchvatech. Domníváme se tedy, že pozorované fluktuace interiktální aktivity nepředcházejí záchvatům, ale naopak je následují, a mají tedy nižší předpovědní hodnotu ve srovnání s fluktuací interiktální aktivity u lidských pacientů.

Poděkování: Tato práce byla podpořena granty Agentury pro zdravotnický výzkum (NU21-08-00533, NU21-04-00601), Grantové agentury České republiky (20-25298S, 21-17564S) a projektem Primus Univerzity Karlovy (PRIMUS/19/MED/003).

ABNORMÁLNÍ AKTIVITA MUTOVANÝCH NEURONŮ V FOKÁLNĚ KORTIKÁLNÍ DYSPLÁZII

Nguyenová M.T., Kylarová S., Procházková N., Řehořová M., Jíruška P., Novák O.
Ústav fyziologie, 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha

Úvod: Fokálně kortikální dysplázie (FCD) je lokální malformace mozkové kůry, která je spojena s farmakorezistentní epilepsií. FCD je charakterizována abnormální neuronální proliferací, diferenciací a migrací neuronů během prenatalního vývoje. Ačkoli je FCD v současnosti předmětem intenzivního výzkumu, mechanismy buněčné aktivity odpovědné za endogenní epileptogenicitu FCD zůstávají stále z větší části neobjasněny. Díky významnému technologickému pokroku v oblasti indikátorů napětového zobrazování je nyní možné provádět optofyziologická měření spontánní neuronální aktivity v živém modelu s vysokým prostorovým i časovým rozlišením. Cílem této práce je charakterizace aktivity a úlohy jednotlivých buněčných podtypů v epilepsii na podkladě FCD s využitím napětového zobrazování.

Metody: Data byla získána z myšího modelu FCD v kmeni C57. Léze byla indukována in utero elektroporací plazmidu nesoucího gen pro mTOR s mutací p.Leu2427Pro a Cre rekombinázu v embryonálním dni 14. Zvířata s lézí byla následně operována ve věku 40-50 dnů, kdy byla provedena kraniotomie, následná injekce adeno-asociovaného viru (AAV) nesoucího geneticky kódovaný napěťový indikátor VoltronST a implantace kraniální okna. Kontrolní zvířata byla operována ve věku 40-50 dnů, kdy jim byl kromě napětového indikátoru injikován též virus nesoucí gen pro Cre rekombinázu pod CaMKII promotorem. V rozmezí 35-50 dnů po operaci byl implantovaným zvířatům injikován fluorescenční kofaktor Janelia Fluor 525 retro-orbitální cestou. Po 24 hodinách byla provedeno optofyziologické in vivo měření jednotlivých neuronů skrz kraniální okno prostřednictvím jednofotonového mikroskopu se snímací frekvencí 1kHz. Následně byla v obrazových datech manuálně označena těla neuronů. Z vyznačených oblastí pak byla extrahována průměrná světlost pixelu v průběhu nahrávky. Ze signálů s dostatečným odstupem signál-šum byly identifikovány akční potenciály pomocí algoritmu SpikePursuit.

Výsledky: Celkem jsme analyzovali signály z 18 neuronů ze čtyř kontrolních zvířat a 24 mutovaných neuronů ze tří zvířat s FCD lézí. Pozorovali jsme statisticky významnou ($P < 0,05$) nižší četnost akčních potenciálů (AP) u mutovaných neuronů v porovnání s kontrolními neurony. Dále jsme analyzovali výskyt a vlastnosti rychlého sledu (salvu) AP, tzv. bursting. Burst jsme definovali jako sled nejméně tří po sobě jdoucích AP s časovým odstupem kratším než 20 ms. Tuto aktivitu jsme identifikovali v 50% kontrolních a v 75% mutovaných neuronů. V případě mutovaných neuronů jsme pozorovali signifikantně vyšší ($P < 0,005$) frekvenci pálení AP v rámci jednotlivého burstu v porovnání s kontrolní skupinou.

Závěr: Prokázali jsme, že napětového zobrazování je velmi účinnou metodou studia fyziologické a patologické buněčné aktivity in vivo a že ji lze úspěšně využít za účelem studia epilepsie na podkladě malformací mozku. Naše pilotní data prokazují, že mutované neurony v FCD lézi mají větší tendenci generovat spontánní aktivitu, která má charakter aktivity epileptického neuronu. Tyto pilotní pokusy otevírají možnosti k detailnímu popisu buněčných mechanismů epileptiformní aktivity (především vysokofrekvenčních *oscilací*), které doposud nebylo možné studovat tradičními výzkumnými metodami.

Podpořeno granty Agentury zdravotnického výzkumu MZ ČR (NU21-08-00533, NU21-04-00601), Grantové agentury České republiky (20-25298S, 21-17564S), Grantové agentury Univerzity Karlovy (254122) a Primus Univerzity Karlovy (21/MED/005).

AUTONOMIC DYSFUNCTION DURING CONVULSIVE SEIZURES IN RATS

Pant A., Liška K., Jefferys J.

2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha

A significant increase in mortality among epileptic patients has been observed when compared to the healthy population. These deaths come suddenly and unexpectedly, and without any obvious cause. Thus they are termed sudden unexpected death in epilepsy patients (SUDEP). The precise cause and mechanism of SUDEP has not been identified. However recent evidence including the large scale MORTEMUS study suggests a significant role of cardiac and respiratory pathologies during and after seizures.

We measured the impact of convulsive seizures in the cardiac and respiratory parameters.

Adult rats received an injection of tetanus toxin into a ventral hippocampus under general anaesthesia. During the same surgery an intranasal thermocouple, subcutaneous ECG leads were implanted. EEG recordings were obtained with the means of a depth electrode implanted into the dorsal hippocampus and ECoG electrodes placed over the contralateral cortex. All sensors were connected to a socket cemented to the skull. After recovery from anaesthesia, continuous video-Telemetry recordings were made through a purpose-built preamplifier, wires and counterbalanced slip rings, and digitised by a signal acquisition system running SPIKE2.

3-10 days after injection spontaneous self-limiting seizures lasting up to 2 minutes occurred, typically in clusters lasting several days. Tonic-clonic phases of seizures were reliably associated with apnoeas. From 11 rats 541 convulsive seizures were analysed. Of these seizures 64% of them showed significant apnoeas longer than 3 seconds with a median of 9s. These apnoeas are almost always associated with tachycardia and bradyarrhythmias. Where data was available 50% of the rats showed premature ventricular contractions during seizures.

We developed a reliable means for chronic in situ monitoring of respiratory airflow in rats with which the respiratory parameters can be reliably monitored. Chronic cardiac and neural parameters were also consistently monitored. We found that the tonic clonic component of seizures led to cessation of breathing, in parallel with cardiac dysfunction. These results demonstrate a link between forebrain seizure activity (especially in generalised tonic clonic seizures), and respiratory and cardiac dysfunction.

IN VITRO METODY CHARAKTERIZACE BUNĚČNÉHO METABOLISMU PRO PERSONALIZOVANOU DIAGNOSTIKU EPILEPTOGENNÍCH MUTACÍ

*Danačíková Š., Pecina P., Kořínek V., Otáhal J.
Fyziologický ústav AV ČR, v. v. i., Praha
Ústav molekulární genetiky AV ČR, v. v. i., Praha
2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha*

Epilepsie je závažné chronické neurologické onemocnění, které postihuje 1–2 % světové populace. Hlavní symptomy provázející pacienty s epilepsií jsou opakované a spontánní záchvaty, způsobené nadměrnou a synchronní aktivitou neuronů v mozku. Epilepsie je multifaktoriální onemocnění, které může být způsobeno různými faktory, mezi které se řadí genetické příčiny, poranění mozku, infekční choroby, porodní komplikace, mozkové nádory a další. Vzhledem k multifaktoriální podstatě onemocnění je současná farmakologická léčba symptomatická a primárně je zaměřená na potlačení záchvatů, avšak přibližně u 30 % pacientů není účinná. V současné době se stále více uplatňuje personalizovaný přístup k diagnostice a léčbě epilepsie a častěji dochází ke spolupráci výzkumných laboratoří a klinických pracovišť. Jedním z cílů spolupráce je identifikovat potenciálně patologické mutace v genech souvisejících s epilepsií. Pro výzkum je možné využít buněčné kultury odvozené z pacienta nebo zavést potenciálně patologickou mutaci detekovanou při genetickém screeningu pacienta do buněčné kultury s definovaným genetickým pozadím. V naší práci se zaměřujeme na charakterizaci diferenciačního procesu indukovaných pluripotentních kmenových buněk (iPSCs) s podmíněnou expresí genu pro neurogenin-2 směrem k neuronům. Jednou z charakterizací diferencujících neuronů je studování změn metabolických parametrů. S pomocí přístroje zvaného Oxygraf měříme změny ve spotřebě kyslíku a kapacitě OXPHOS systému. Z dlouhodobého hlediska má tento přístup potenciál přispět k přesnější diagnostice epilepsie a výběru vhodné farmakologické léčby pro konkrétního pacienta. Projekt podpořen GA UK No 343421.

AN EFFECT OF SULFORAPHANE ON CEREBRAL BLOOD FLOW AND ELECTROPHYSIOLOGICAL PARAMETERS IN ADULT RATS

*Daněk J., Nedecký M., Svoboda J., Folbergrová J., Otáhal J.
Fyziologický ústav AV ČR, Praha*

As around 30 % of epilepsy patients do not respond to the anti-seizure medication, there is a need for the development of new therapeutic venues. As many anti-epileptic drugs primarily focus on seizures, and acute epilepsy symptoms, in our previous work we were trying to interfere with the processes known to occur in epileptogenesis, namely metabolism changes, using sulforaphane. We discovered that sulforaphane (SFN) can reverse epileptogenesis-induced metabolic changes and increase the blood flow as measured using Laser Doppler Flowmetry (LDF) when the animals underwent transcallosal electrical stimulation. The previous experiments were conducted on immature rats and changes of excitability was not evaluated. In this work, we decided to treat adult rats with the SFN and perform LDF as well

as electrophysiological recording, using the epileptic after discharges (AD) model. In the case of LDF, two stimulating electrodes were placed above the MCx/SCx and LDF probe was placed on the contralateral side. Subsequently, we performed a series of incrementally increasing electrical stimulations, as well as a series of 15 s lasting stimulations at 8Hz in a fast succession to mimic status epilepticus (SE). We further examined impact of SFN pretreatment on the excitability, using the same location of the stimulation electrodes but adding another four subdural electrodes on various pre-defined spots. We measured evoked potentials (75-6000 mV), paired pulses (50-500 ms) and a number of spike wave discharges after 15s/8Hz electrical stimulation.

We found that SFN pretreatment 24 hours before the electrical stimulation significantly increased blood flow amplitude as well as blood flow itself (measured as area under the curve) when compared to the blank group. However, SFN had very limited impact on the electrophysiological parameters when measured 1 h and 24 h after its application, rendering itself as not having direct anti-seizure effect, as the slight non-significant improvement could be a result of increased neurovascular coupling. Nevertheless, SFN warrants further attention as it shows potential as a powerful anti-epileptic drug, as shown by our work and other working with Nrf2 stimulators.

The work was supported by grant from the Czech Science Foundation no. 22-28265S.

NEURO II

TRANSLAČNÍ VÝZKUM ANEB FYZIOLOGIE 21.STOLETÍ – MOŽNOSTI LOKALIZACE EPILEPTOGENNÍ TKÁNĚ POMOCÍ MRI

Kynčl M., Kala D., Prysiazniuk Y., Šanda J., Pokošová P., Svoboda J., Daněk J., Jurášek B., Holubová Z., Profantová N., Danačíková Š., Janča R., Faridová A., Otáhal J.

Ústav patologické fyziologie 2.LF UK, Fyziologický ústav AVČR, Klinika zobrazovacích metod FN Motol a 2.LF UK, Fakulta elektrotechnická ČVÚT

Přenos poznatků ze základního výzkumu do klinické praxe je pro zlepšování péče o pacienty zásadní. Proces translace je však velmi komplikovaný a to nejenom z důvodu složitých regulací ze strany státních autorit, ale ve značné míře i díky rozdílnému pohledu a očekávání ze strany kliniků, základních vědců a komerčních partnerů. Naše skupina EpiReC (Epilepsy Research Center of Prague) se již od roku 2018 propojuje klinické týmy FN Motol s vědeckými skupinami z 2.LF UK, FGÚ AVČR a FEL ČVÚT s jediným cílem zlepšit kvalitu pacientů s epilepsií pomocí špičkového výzkumu. EpiReC pokrývá celé spektrum témat epileptologického výzkumu. Naše výzkumná skupina – Neuroimaging - se zaměřuje na zlepšení diagnostických postupů pomocí zobrazovacích technik. Snažíme se integrovat do diagnostického postupu naše znalosti moderní fyziologie a rovněž patofyziologie epilepsie. Výsledkem je nový MRI diagnostický protokol Epi4 (dedikovaný protokol pro pacienty s epilepsií čtvrté generace), řada metod matematického postprocessingu i s využitím umělé inteligence, národní doporučení pro neurozobrazovací postupy v epilepsii, instruktážní video pro dětské pacienty a hlavně zlepšení samotného MRI diagnostického procesu a to nejen z pohledu lékaře, ale především samotného pacienta. V příspěvku budou uvedeny

konkrétní příklady, jak znalosti z laboratoře přenášíme do moderních diagnostických postupů a jaké jsou vize moderní diagnostiky postavené na rychlé translaci poznatků ze základního výzkumu do praxe.

Naše činnost je kromě projektu grantových agentur podporována projektem projektem č. LX22NPO5107 (MŠMT): Financováno EU –Next Generation EU a neziskovou organizací EpiReC z.s.

PROTONOVÁ RADIOTERAPIE A JEJÍ SPECIFIKA V LÉČBĚ NÁDORŮ MOZKU U PACIENTŮ DĚTSKÉHO VĚKU

Jurášek B.¹, Kynčl M.1, Otáhal J.²

¹Klinika zobrazovacích metod 2. LF UK a FN v Motole, Praha

²Ústav patologické fyziologie 2. LF UK, Praha

Protonová radioterapie (PBT) je v současné době preferovanou metodou používanou k léčbě mnoha typů zhoubných nádorů v dětské populaci. Tato skupina pacientů z tohoto druhu radioterapie profituje více než jiné: Rostoucí a vyvíjející se tkáně dětí jsou totiž ve srovnání s dospělými pacienty citlivější k stochastickým účinkům ionizujícího záření. Toto riziko je při PBT ve srovnání se standardní fotonovou radioterapií redukováno, neboť fyzikální vlastnosti protonového záření snižují dávku pro tkáně tvořící okolí ozařovaného ložiska.

Odlíšně od chování fotonů, protony při prostupu tkáněmi kontinuálně ztrácejí rychlost, čímž se zároveň zvyšuje energie, kterou uvolňují do tkání. S postupným zpomalováním dojde v oblasti zájmu k jejich zastavení a vydatnému odevzdání energie tkáním v tomto místě - na křivce energie vydané protonem se tento bod nazývá Braggův vrchol. Energie vydaná částicemi za tímto vrcholem je zanedbatelná a tkáň distálně od ložiska je tedy šetřena nežádoucími účinkům ionizujícího záření.

Přesto však i PBT nese rizika, jejichž spektrum je pro tento typ léčby specifické a liší se od jevů doprovázejících fotonovou radioterapii. Mezi tyto následky patří u léčených nádorů mozku postižení bílé hmoty mozku ve formě edému, změny cév charakteru arteriopatií, objevují se pseudoprogrese nádorových změn a nekrotizace mozkové tkáně. Nadále před námi stojí otázka, jak tyto změny spolehlivě odlišit od vlastního růstu nádoru v co nejbližším stadiu a tím přispět k adekvátní úpravě léčby pacienta. Cílem této práce je demonstrovat na jednotlivých případech MR nálezy poradiačních změn a porovnat je s MR nálezy s recidivou expanze - tato MR data budou prezentována s názornou obrazovou dokumentací.

Mnohdy je konvenčním MR zobrazením obtížné nebo nemožné odlišit přesně recidivu onemocnění a klinicko-radiologické změny navozené terapií. Díky pokroku v diagnostických zobrazovacích metodách se nabízí možnost tyto nepříznivé jevy v rámci PBT detekovat s větší přesností a v časnějších fázích jejich rozvoje, tím zároveň snížit invazivitu diagnostických procedur a zároveň podpořit klinického onkologa v nastavení odpovídající personalizované terapie. Naděje lze upírat např. k sekvenci ASL, perfuznímu zobrazení bez použití kontrastní látky či k DKI, pokročilé sekvenci detekující difuzi ve tkáních.

MOHAN, Radhe a David GROSSHANS. Proton therapy – Present and future. *Advanced Drug Delivery Reviews* [online]. 2017, 109, 26-44 [cit. 2023-01-19]. ISSN 0169409X. Dostupné z: doi:10.1016/j.addr.2016.11.006

Bhattacharya DC, Sahil; Lakshmanan, Raul; Warne, Richard; Beneati, Massimo; Michalski, Anthony; Aquilina, Kristian; Jacques, Thomas; Hargrave, Darren; Chang, Yen-Ching; Gains, Jenny; Mankad, Kshitij. Spectrum of neuroimaging findings post-proton beam therapy in a large pediatric cohort. *Child's Nervous System*. 2020.

VLIV PŘÍTOMNOSTI EDÉMU NA REKONSTRUKCI NERVOVÝCH DRAH POMOCÍ MAGNETICKÉ REZONANCE U PACIENTŮ PO CÉVNÍ MOZKOVÉ PŘÍHODĚ

Kala D., Šulc V., Olšerová A., Svoboda J., Prysiachniuk Y., Pošusta A., Kynčl M., Šanda J., Tomek A., Otáhal J.

Univerzita Karlova, Druhá Lékařská Fakulta, Oddělení Patologické Fyziologie, Praha

Traktografie je metoda virtuální rekonstrukce nervových drah pomocí difuzní magnetické rezonance (dMRI). Jeden z možných způsobů traktografie je implementován v programu TractSeg (Wasserthal et al., 2018). Tato metoda využívá atlas trajektorií 72 dobře definovaných traktů, což algoritmus zjednodušuje a proces urychluje. U pacientů s fokálními patologiemi, jako je například cévní mozková příhoda (CMP), je ale mozková tkáň často posunuta vlivem edému a pozice nervových drah se tak může od atlasu lišit. Schopnost algoritmů traktografie založených na využití atlasu rekonstruovat správně mozkové dráhy u pacientů po CMP zatím nebyla ověřena. Cílem naší práce bylo, zaprvé, ověřit, jestli TractSeg dokáže v okolí ischemické léze správně zachytit posun mozkových drah vlivem edému. Zadruhé, vyhodnotit změnu difuzních parametrů tkáně podél ischemií zasažených drah během doby zrání ischemické léze mezi akutní a subakutní periodou.

Pro tuto studii bylo vybráno pět pacientů. Inkluzní kritéria byla cévní mozková příhoda v teritoriu Arteria cerebri media s úspěšně provedenou mechanickou rekanalizací, zdravotní stav pacienta umožňující úspěšné provedení vyšetření na magnetické rezonanci a podepsaný informovaný souhlas. Pacienti byly podrobeni MRI vyšetření ve třech časových bodech: 16-48 hodin, 6-8 dní a 12-15 dní po cévní mozkové příhodě. Vyšetření bylo provedeno na 3T MRI skeneru Siemens Vida. MRI protokol obsahoval T1 vážený obraz, Fluid Attenuation Recovery (FLAIR), and difuzní MRI (b [0,1000,3000], 20 směrů). Všechny MRI sekvence byly koregistrovány a normalizovány pomocí SMP12 toolboxu. FLAIR a dMRI byly použity pro ruční označení ischemické léze zkušeným radiologem. Difuzní MRI bylo předzpracováno standartním postupem (Maximov et al., 2019) jenž obsahoval redukci šumu a korekce Gibsova artefaktu, pohybu, eddy smyček, susceptibility torzorů, a signálové nehomogenity. Difuzní parametry střední difuzivita (MD), střední kurtózy (MK) a frakční a kurtózní anizotropie (FA a KFA) byly spočítány z difuzní MRI pomocí Diffusion Kurtosis Estimator (Tabesh et al., 2011). Rekonstrukce nervových drah byla provedena nástrojem TractSeg.

Ačkoliv se jednotliví pacienti zahrnutí do analýzy lišili co do velikosti ischemické léze a její lokalizace, pozorovali jsme u všech obdobné chování traktografie v okolí ischemické léze. V akutní fázi ischemie (první časový bod) bývá léze oteklá a tkáň vlivem edému posunutá oproti normálu. V pozdějších časových bodech dochází k ústupu edému a tkáň je posunuta do svého původní pozice. V naší studii jsme ověřili, že nervové dráhy rekonstruovaném nástrojem TractSeg podléhají stejnému posunu jako tkáň. Toto je ověření konceptu, že rekonstrukční metoda TractSeg je schopna správně sledovat trakt

i v postischemické tkáni při přítomnosti edému a lze ji proto použít u pacientů po cévní mozkové příhodě.

Dále jsme sledovali změnu difuzních parametrů tkáně mezi 3 časovými body. V průběhu času jsme pozorovali vzestup MD se současným poklesem FA v postižených částech traktu. To lze vysvětlit jako radiologický projev přechodu od cytotoxického edému s omezenou difúzí k vazogennímu edému se zvýšenou difúzí, který byl popsán dříve (Chen et al., 2021). Rovněž jsme pozorovali pokles MK (svědčící o snížení efektu nelinearity v difúzním modelu) je v souladu s již popsanými postischemickými procesy, kdy vysoký MK v prvním časovém bodě lze vysvětlit přítomností cytotoxického edému omezujícího difúzi, který se časem snižuje.

V této studii jsme prokázali, že nástroj TractSeg je schopen správně rekonstruovat nervové dráhy v přítomnosti edému a zároveň jsme popsali změnu difuzních parametrů v okolí ischemické léze v průběhu jejího vývoje.

KLASIFIKACE MUTACE IDH V GLIOMECH POMOCÍ ASL A DSC MRI

Przyaszniuk Y., Kala D., Otáhal J., Petr J., Nordhøy W.

Ústav patologické fyziologie 2 LF UK, Praha

Úvod: Gliom je nejčastějším zhoubným primárním nádorem mozku. Nejnovější klasifikace nádorů CNS Světové zdravotnické organizace (WHO) z roku 2021 zdůrazňuje význam molekulárních markerů pro klasifikaci nádorů [1], zejména mutačního stavu izocitrátdehydrogenázy (IDH). Mutace IDH se vyznačuje odlišným vzorcem vaskularizace nádoru ve srovnání s IDH-wildtype [2] a je spojena s lepší prognózou. Vyšší vaskularizace u IDH-wildtype nádorů je reprezentována zvýšeným průtokem krve mozkem (Cerebral Blood Flow - CBF), což je potenciální neinvazivní marker klasifikace IDH-genotypu, jak bylo dříve prokázáno pomocí dynamického kontrastního vyšetření (Dynamic Susceptibility Contrast - DSC) MRI [3] a MRI s arteriálním spinovým značením (Arterial Spin Labeling - ASL) [4]. Cílem této studie je zhodnotit a přímo porovnat schopnost DSC a ASL perfuzního MRI posoudit stav mutace IDH v dospělých gliomech. Metody: Do studie bylo retrospektivně zařazeno 73 pacientů (53,4±16,2 let, 48 mužů) přijatých do Univerzitní nemocnice v Oslu v 2016-2021. Zařazovací kritéria byla: věk ≥ 18 let, histologicky potvrzený gliom, ASL a DSC skeny pořízené během jednoho sezení a žádná předchozí onkologická léčba. Data byla generována na 3 T MRI GE skenerech. Protokol zahrnoval T1-vážený 3D FSPGR/BRAVO před (T1w) a po aplikaci kontrastní látky (T1wc), T2w 3D FLAIR (FSE/CUBE), T2w 2D Propeller, 3D FSE spirální pCASL s potlačením pozadí a jednobolusové 2D GRE-EPI DSC. Z klinické databáze byly získány údaje o mutaci IDH a stavu kódece 1p/19q. Nádor a edém byly segmentovány pomocí segmentačního modelu nnU-Net [5] z T1wc, T1w, T2w a FLAIR. Skeny ASL byly zpracovány pomocí programu ExploreASL (verze 1.9.0) [6]. Mapy ASL-CBF byly normalizovány na průměrné CBF v zdravé šedé hmotě (nCBF). DSC skeny byly zpracovány v programu nordicICE (v4.1.2; NordicNeuroLab) s použitím normalizace na automaticky detekovanou zdravou bílou hmotu (nCBF/nCBV) [7]. Pacienti bez strukturálních skenů, se špatnou kvalitou ASL, s neúspěšnou segmentací normální tkáně, s neúspěšnou segmentací nádoru nebo s chybějícím stavem mutace IDH byly vyloučeny z datasetu. Průměrné a maximální (95. percentil) hodnoty perfuze byly vypočítány v oblasti nádoru (Region of Interest - ROI) a statisticky analyzovány pomocí t-testu, křivky ROC (receiver operating characteristic) a Pearsonovy korelační analýzy

v programu MATLAB.

Výsledky: Konečný soubor dat zahrnoval 45 pacientů (52,2±16,7 let, 30 mužů), z nichž 24/21 bylo IDH-mutant/wildtype, 31 mělo edém v mozku a 11/9 mělo negativní/pozitivní stav 1p/19q kodelece. Gliomy IDH-wildtypu mají významně vyšší maximální nádorové ASL-nCBF, DSC-nCBF, DSC-nCBV a průměrné nádorové DSC-nCBF, DSC-nCBV. Průměrná nádorová ASL-nCBF vykazuje nejlepší výkonnost s nejvyšší plochou pod křivkou (AUC), senzitivitou a specificitou. Lineární korelační analýza v ROI ukazuje významnou pozitivní korelaci mezi perfuzními parametry ASL a DSC jak v nádoru, tak v edému.

Diskuze: Průměrná hodnota ASL-nCBF v nádoru se mezi gliomy s divokým typem IDH a gliomy s mutací IDH významně nelišila, ale vykazovala nejlepší výkonnost při klasifikaci IDH. Možným vysvětlením tohoto rozporu je přítomnost odlehklých průměrných hyperperfuzí nádorů v souboru dat. Výkonnost markerů odvozených z DSC byla horší než u ASL, ale stále ve shodě s předchozími studiemi [3]. Významná pozitivní korelace mezi ASL a DSC markery v nádoru je ve shodě s výsledky, které uvádí Ma et al [8]. Dále jsme zkoumali korelaci ASL a DSC v edému, abychom zhodnotili potenciál ASL pro hodnocení heterogenity mikroprostředí nádoru [9]. Výsledky korelační analýzy ukazují, že ASL je slibná pro hodnocení nádorových prostředí.

Závěr: Průměr ASL-nCBF v nádoru vykazuje lepší výkonnost při klasifikaci IDH-genotypu než DSC. ASL a DSC ukazují významnou pozitivní korelaci, která zvyrazňuje použitelnost ASL v klinické diagnostice.

Publikace je podpořena projektem č. LX22NPO5107 (MEYS): Financed by EU – Next Generation EU a grantem č. NU21-08-00228 AZV ČR. [1] WHO Classification of Tumours Editorial Board. World Health Organization Classification of Tumours of the Central Nervous System. 5th ed. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2021. [2] Álvarez-Torres, MdM, Lopez-Cerdan, A., de la Iglesia Vayá, V., Fuster-Garcia, E., Garcia-Garcia, F., & Garcia-Gomez, J. M. (2022). Vascular differences between glioblastoma IDH-wildtype and astrocytoma IDH-mutant grade 4 at imaging and transcriptomic level. [3] van Santwijk, L., Kouwenberg, V., Meijer, F., Smits, M., & Henssen, D. (2022). A systematic review and meta-analysis on the differentiation of glioma grade and mutational status by use of perfusion-based magnetic resonance imaging. *Insights into Imaging*, 13(1), 1-12. [4] Wang, N., Xie, S. Y., Liu, H. M., Chen, G. Q., & Zhang, W. D. (2019). Arterial spin labeling for glioma grade discrimination: correlations with IDH1 genotype and 1p/19q status. *Translational Oncology*, 12(5), 749-756. [5] Isensee, F.; Petersen, J.; Klein, A.; Zimmerer, D.; Jaeger, P.F.; Kohl, S.; Wasserthal, J.; Koehler, G.; Norajitra, T.; Wirkert, S.; et al. nnU-Net: Self-adapting framework for u-net-based medical image segmentation. arXiv 2018, arXiv:1809.10486 [6] Mutsaerts, H. J., Petr, J., Groot, P., Vandemaële, P., Ingala, S., Robertson, A. D., ... & Barkhof, F. (2020). ExploreASL: an image processing pipeline for multi-center ASL perfusion MRI studies. *Neuroimage*, 219, 117031. [7] Emblem, K. E., & Bjornerud, A. (2009). An automatic procedure for normalization of cerebral blood volume maps in dynamic susceptibility contrast-based glioma imaging. *American journal of neuroradiology*, 30(10), 1929-1932. [8] Ma, H., Wang, Z., Xu, K., Shao, Z., Yang, C., Xu, P., ... & Rong, Y. (2017). Three-dimensional arterial spin labeling imaging and dynamic susceptibility contrast perfusion-weighted imaging value in diagnosing glioma grade prior to surgery. *Experimental and therapeutic medicine*, 13(6), 2691-2698. [9] Juan-Albarracín, J., Fuster-Garcia, E., García-Ferrando, G. A., & García-Gómez, J. M. (2019). ONCOhabitats: A system for glioblastoma heterogeneity assessment through MRI. *International journal of medical informatics*, 128, 53-61.

ACETAZOLAMIDEM INDUKOVANÁ ZMĚNA HEMODYNAMIKY MOZKOVÉ TKÁŇE V EXPERIMENTÁLNÍM MODELU FOKÁLNÍ KORTIKÁLNÍ DYSPLAZIE

Svoboda J., Daněk J., Otáhala J.

Fyziologický ústav Akademie věd České Republiky, Ústav patologické fyziologie 2.lékařské fakulty Univerzity Karlovy, Fakulta tělesné výchovy a sportu Univerzity Karlovy

Fokální kortikální dysplazie (FCD) je vrozená abnormalita vývoje mozku, kdy neurony nedokázaly migrovat ve správné formaci in utero. Obvyklým projevem tohoto onemocnění bývají epileptické záchvaty, které často obtížně reagují na farmakologickou léčbu. Experimentální, mutací indukovaná, FCD má u myši vysokou epileptogenicitu (~60 %). Předpokládáme, že výskytu spontánních záchvatů předchází změna energetického metabolismu a/nebo neurovaskulární vazby (NVC). Deregulace NVC ovlivňuje mechanismus, který spojuje přechodnou nervovou aktivitu s následnou změnou průtoku krve mozkem a může být charakteristickým znakem epileptogenní dysplastické kůry.

Fokální kortikální dysplazie s morfologií IIb je experimentálně modelována in utero elektroporací mutace mTOR (p.Leu2427Pro), která byla identifikována jako příčina lidského FCD. Konstrukt cDNA obsahující mutaci p.Leu2427Pro spolu s genem pro zelený fluorescenční protein (GFP) je injikován do laterální komory myších embryí E14 (C57BL/6j) a elektroporován. Reprodukovatelně sledujeme dopady na kortikální vývoj a výskyt patologických neuronálních morfologií analogických dysplastické kůře pozorované u lidského FCD.

Cílem této studie je porovnat reaktivitu zdravé a dysplastické mozkové tkáně po i.v. podání vazoaktivní látky acetazolamidu (ACZ) u laboratorní myši (C57BL/6J). ACZ je reverzibilní inhibitor enzymu karboanhydrázy s vasodilatačním účinkem. Při podání dostatečné dávky (50mg/kg) zvyšuje průtok krve mozkem (CBF). Temporální změny CBF pozorujeme optickou cestou s využitím Laserové Dopplerovi velocimetrie (LDF). Anestezie je indukována odpařováním směsi isofluranu (ISF) a vzduchu. Vzhledem k zjištění, že samotná inhalace ISF ovlivňuje mozkovou hemodynamiku, jsme po dobu měření udržovali minimální možnou koncentraci ISF (~1%). LDF sondy jsou umístěny na odkryté parietální kosti ve schématu ipsi a kontralaterální hemisféry, kde jedna hemisféra vykazuje mutaci a protilehlá, mutací nezasažená hemisféra, slouží jako kontrola.

Práce byla podpořena projekty GAČR 22-28265S.

SÉROVÉ BIOMARKERY POŠKOZENÍ U HYPOXICKO-ISCHEMICKÉ ENCEFALOPATIE NOVOROZENCŮ

Tefr Faridová A., Otáhal J., Heřman H.

Ústav patologické fyziologie 2. LF UK, Praha, ČR Fyziologický ústav AV ČR, Praha, ČR Ústav pro péči o matku a dítě Podolí, Praha

Hypoxicko-ischemická encefalopatie novorozenců je následek mozkového infarktu způsobený nedostatkem kyslíku. Perinatální asfyxie následovaná HIE je hlavní příčinou

úmrtí a závažné perinatální morbidity novorozenců. Nejčastější klinickou diagnózou je peripartální asfyxie, která má za následek nedostatečné zásobení tkání kyslíkem. Nejčastěji je způsobena tlakovými změnami v cirkulaci matky nebo jiným zásahem mozkové perfuze dítěte během porodu. Dle České neonatologické společnosti je definovaná jako metabolická a/nebo smíšená acidóza (pH <7.00) v umbilikální arterii, přetrvávající skóre podle Apgarové 0 - 3 v 5. minutě po porodu, a/nebo přítomnost závažné neurologické symptomatologie (křeče, koma, hypotonie), a/nebo klinické známky systémové multiorgánové dysfunkce. Kromě hodnoty pH jsou výše uvedená kritéria značně subjektivní, a je tedy snaha zkoumat objektivní parametry ke zhodnocení závažnosti hypoxie novorozenců, protože včasná diagnostika perinatální asfyxie následovaná adekvátní intenzivní terapií snižuje výskyt hypoxicko-ischemické encefalopatie. Rychlá diagnostika umožňuje včasné zařazení kompromitovaného novorozence k adekvátní intenzivní terapii a celotělové hypotermii jen v omezeném časovém intervalu, ve kterém je možné zabránit rozvoji molekulární kaskádě procesů, které trvale poškodí mozkovou tkáň. Klasické markery mozkového poškození (UZ, MRI, EEG) nejsou dostatečně selektivní a komprese během vaginálního porodu zhoršuje jejich senzitivitu v akutní fázi rozvoje HIE. Ideálním markerem je tkáňově specifický produkt mozkové tkáně, který je detekovatelný v periferní (pupečnickové a žilní) krvi. V naší studii longitudinálně analyzujeme hladiny 2 neuronálních markerů (NSE, HMGB1) v korelaci s klinickým hodnocením hypoxických novorozenců. NSE (neuron specifická enoláza) je glykolytický enzym přítomný ve tkáních neuroektodermálního původu, ve zdravém organismu především v neuronech. Na infarkt reaguje pomaleji, ale specifičtěji narozdíl od HMGB1. HMGB1 patří mezi alarmíny, což jsou produkty obrany mechanismu, které patří mezi prozánětlivé cytokiny, jejichž hodnoty se rychle zvyšují a za 1-2 hodiny po mozkovém infarktu stoupají k maximu. Cílem naší studie je zjistit dynamiku sérových biomarkerů v periferní krvi novorozenců v korelaci s hloubkou hypoxie. Prezentace předběžných dat naší studie bude součástí prezentace. Podpořeno projektem č. LX22NPO5107 (MŠMT): Financováno EU – Next Generation EU.

NEUROGENÉZA A CIRKADIÁNNY SYSTÉM

Hodová V., Marešová V., Niederová-Kubíková L.

Centrum biovied SAV, Ústav biochémie a genetiky živočíchov, Bratislava

Úvod: U všech živočíchů cirkadiánný systém generuje cirkadiánné rytmy molekulárných, fyziologických a behaviorálnych procesov počas približne 24-hodinovej periódy. Rytmy sa synchronizujú podľa cyklických zmien vonkajšieho prostredia a nastavujú sa tak správne fázové vzťahy vnútri organizmu. Neurogenéza ako aktívny fyziologický proces zabezpečujúci plasticitu mozgu prebieha u vtákov vo ventrikulárnej zóne (VZ) mozgovej komory, odkiaľ bunky migrujú do celého predného mozgu, vrátane oblastí dôležitých pre spev spevavcov. Cieľom tejto práce bolo zistiť či tvorba nových neurónov alebo ich zánik vykazuje cirkadiánný rytmus.

Metodika: V experimente sme použili samcov zebričky červenozobej (*Taeniopygia guttata*), ktorých sme rozdelili podľa zložitosti spevu do šiestich skupín po 6 jedincov (n=36). Jedinci boli chovaní pri svetelnom režime 12L:12D (7:00-19:00/ZT0-12). Pre odobratie tkaniva mozgu boli jedince usmrcované každé štyri hodiny (ZT2, 6, 10, 14,

18, 22). Vždy 2 hodiny pred usmrtením sme jedincom podali exogénny značkovač neurogenézy, analóg tymidínu 5-etinyl-2'-deoxyridín (EdU). Neurogénezu sme sledovali na bunkovej a aj génovej úrovni. EdU-pozitívne bunky sme zafarbili na rezoch mozgu v štyroch častiach VZ od rostrálnej po kaudálnu časť. Z rezov tkaniva obsahujúcich hypotalamus aj VZ sme pomocou real-time PCR stanovili úroveň expisie génov. Kvantifikovali sme génovú expresiu hodinových génov (Per2, Per3, Bmal1, Cry1, Cry2, Clock), jadrového antigénu proliferujúcich buniek (PCNA) pre stanovenie neurogenézy a troch génov pre apoptózu (kaspáza 3, Bax, Bcl-2).

Výsledky: Najprv sme pomocou kosínorovej analýzy potvrdili rytmus všetkých hodinových génov vo vzorkách. Na základe počtu EdU+ buniek sme zistili, že tvorba nových neurónov vo VZ nevykazuje endogénny rytmus. Podobne aj na génovej úrovni sme nedetegovali žiadny rytmus expisie proliferáčného markera PCNA počas 24-hodinovej periódy. Cirkadiánnny rytmus sme v našich vzorkách nezistili ani v prípade génovej expisie troch apoptických génov.

Záver: Naše výsledky naznačujú, že neurogenéza a rovnako aj proces apoptózy u spevavcov nie sú pod kontrolou cirkadiálneho systému. Pre definitívne tvrdenie je však potrebná ešte detailnejšia analýza.

Táto práca bola podporená grantami APVV-20-0344 a VEGA 2/0068/20.

KARDIO I

OXID DUSNATÝ V KARDIOPROTEKCI NEONATÁLNIHO SRDCE

Doul J., Minaříková M., Charvátová Z., Maxová H.

Ústav patologickej fyziologie 2. LF UK, Univerzita Karlova, Praha

Úvod: Kardioprotektívny účinok ischemického preconditioningu (IPC) a ischemického postconditioningu (IPoC) u dospelých srdcí je zprostředkovaný mj. oxidem dusnatým (NO). V průběhu časného ontogenetického vývoje vykazují srdce potkanů vyšší odolnost vůči ischemicko-reperfučnímu (I/R) poškození, obsahují vyšší hladiny sérových nitrátů a jejich odolnost nelze dále zvýšit pomocí IPC nebo IPoC. Blokátor NOS (L-NAME) snižuje tuto vysokou odolnost neonatálních srdcí vůči I/R poškození. Ačkoliv předchozí výsledky naznačují možnou roli NO v kardioprotekci neonatálních srdcí, vliv donorů NO na neonatální myokard doposud nebyl otestován. Cílem naší studie bylo otestovat vliv NO na kardioprotekci neonatálního srdce a u IPoC u 10-ti denních srdcí a to pomocí donorů NO (DEA-NONO a SIN-1) a blokátoru NOS (L-NAME).

Metody: Potkaní srdce izolovaná 1. a 10. postnatální den byla perfundována dle Langendorffa Krebs-Henseleitovým roztokem. Síla kontrakce (DF) byla měřena izometrickým snímačem tlaku napojeným na Powerlab (ADInstruments). Srdce byla vystavena 40-ti minutové globální ischemii s následnou reperfúzí až do maximální obnovy DF. IPoC byl aplikován jako 5 nebo 7 10-ti sekundových period ischemie/reperfuze (I/R). Perfuze NO donory začala 5 minut před ischemií a pokračovala 20 minut reperfuze. Otestovány byly dvě různé koncentrace NO donorů (0,2 a 10 mg/l). Perfuze L-NAME (200 μM) začala 10 minut před ischemií a pokračovala 20 minut reperfuze.

Výsledky: Odolnost srdcí k ischemii fyziologicky významně poklesla mezi 1. a 10. postnatálním dnem. Nízké koncentrace donoru DEA-NONO významně zvýšily odolnost

myokardu k I/R poškodení 1. i 10. den, zatímco vysoké koncentrace DEA-NONO neměly žádný účinek. Donor SIN-1 zvýšil odolnost k I/R poškodení 10. den, ale nikoliv 1. den. Blokátor L-NAME významně snížil odolnost vůči I/R poškodení 1. postnatální den, ovšem překvapivě zvýšil odolnost vůči I/R poškodení 10. postnatální den. IPoC protokol 7x10s byl kardioprotektivní 10. den, ale tato protekce nebyla ovlivněna ani donory NO ani L-NAME.

Závěr: Prokázali jsme, že: 1) odolnost neonatálních srdcí vůči I/R poškodení je závislá na NO obdobně jako u dospělých, 2) účinek IPoC u 10-ti denních srdcí oproti dospělým na NO závislý není. Tento účinek by mohl být zprostředkován jinými mechanismy, např. redukcí kalciového overloadu.

Podpořeno projektem č. LX22NPO5107 (MŠMT): Financováno EU –Next Generation EU.

ÚČINKY KVERCETÍNU NA FYZIOLOGICKÉ FUNKCE SRDCA, HYPERTOFICKÚ REMODELÁCIU A ODOLNOST VOČI ISCHEMICKO-REPERFÚZNEMU POŠKODENIU U DIABETICKÝCH POTKANOV 2. TYPU KMEŇA ZDF

Ferenczyová K.¹, Kindernay L.¹, Kaločayová B.¹, Sýkora M.¹, Bartošová L.², Tóthová Ľ.³, Barančík M.¹, Rajtík T.², Barteková M.^{1,4}

¹Ústav pre výskum srdca, Centrum experimentálnej medicíny SAV, Bratislava

²Katedra farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave

³Ústav molekularnej biomedicíny, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave

⁴Fyziologický ústav, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave

Úvod: Ochorenia kardiovaskulárneho systému (KVS) patria k najrozšírenejším a najkomplexnejším civilizačným ochoreniam, najmä ischemická choroba srdca a akútne infarkt myokardu. Najčastejšie sa tieto ochorenia vyskytujú v kombinácii s vysokým vekom resp. s komorbiditami súvisiacimi s nezdravým životným štýlom. Úzku viazanosť s oboma faktormi má vznik diabetu 2. typu, potenciálne vedúci k rozvoju diabetickej kardiomyopatie. Pri hľadaní efektívnej terapie resp. prevencie voči ochoreniam KVS sa výskum okrem iných intervencií zameriava aj na využitie látok rastlinného pôvodu akým je v prírode veľmi rozšírený flavonoid - kvercetín (QCT). Do dnešného dňa boli zdokumentované viaceré kardioprotektívne účinky QCT, ktoré však boli potvrdené najmä na zvieracích modeloch u mladých zdravých jedincov. Cieľom našej práce sa preto stalo odhalenie potenciálnych priaznivých účinkov QCT na fyziologické funkcie srdca, hypertofickú remodeláciu a odolnosť voči ischemicko-reperfúznemu (I/R) poškodeniu u starších jedincov, ktorí zároveň trpia pridruženou komorbiditou - diabetom 2. typu. Metodiky: V práci boli použité 6-mesačné a 1-ročné chudé (fa/+) a obézne (fa/fa) ZDF (Zucker diabetic fatty) potkany, ktorým bol orálne podávaný QCT po dobu 6 týždňov v dávke 20 mg/kg/deň. Krvný tlak bol potkanom meraný pred začatím a po ukončení podávania QCT. Po uvedení zvierat do hlbkej anestézy bola odobratá krvná plazma, z ktorej boli analyzované markery oxidačného stresu. Izolované srdcia ZDF potkanov boli vystavené I/R (30 min/120 min). Molekulárne mechanizmy účinku QCT boli v srdci skúmané metódou Western blot, pomocou ktorej bola sledovaná expresia proteínov signálnej dráhy RISK („Reperfusion Injury Salvage Kinases“), ktorej aktivácia je spájaná

s kardioprotektívnymi účinkami QCT. Navyše, u 1-ročných chudých aj obéznych ZDF potkanov bola echokardiograficky monitorovaná funkcia srdca pred začatím a po ukončení podávania QCT. Po usmrtení bol vo vzorkách z ľavej komory stanovený celkový obsah kolagénu s využitím hydroxyprolínovej eseje.

Výsledky: Naše dáta preukázali, že podávanie QCT signifikantne znížilo krvný tlak u 6-mesačných chudých aj obéznych potkanov, zatiaľ čo u 1-ročných nemalo žiadenej efekt. QCT tiež signifikantne zvýšil parameter antioxidantnej aktivity (FRAP) v krvnej plazme obéznych 1-ročných potkanov. Podávanie QCT nemalo kardioprotektívne účinky voči I/R poškodeniu ani v jednej vekovej skupine, QCT dokonca negatívne ovplyvnil niektoré parametre post-ischemickej funkčnej obnovy srdca u 1-ročných potkanov. QCT zvýšil expresiu eNOS u 6-mesačných a PKC- ϵ v srdciach 1-ročných potkanov, avšak komplexnú aktiváciu RISK dráhy nevyvolal. U 1-ročných obéznych ZDF potkanov podávanie QCT normalizovalo E/A pomer (marker diastolickej dysfunkcie) a zároveň redukovalo hrúbku steny ľavej komory, čo bolo podporené signifikantným znížením množstva kolagénu v QCT skupine.

Záver: QCT sa ukázal ako látka s priaznivými účinkami na krvný tlak v modeli diabetu 2. typu, avšak zvyšujúci sa vek a/alebo rozvoj diabetu narúšajú jeho antihypertenzné účinky. V prevencii I/R poškodenia srdca v kombinácii s cukrovkou 2. typu a vyšším vekom sa QCT neprejavil efektívne. Jedným z dôvodov zlyhania účinkov QCT v danom modeli poškodenia vo vyššom veku a diabete môže byť zlyhanie aktivácie RISK dráhy. Naopak, vo vyššom veku QCT potlačil diabetom-indukovanú diastolickej dysfunkciu a znížil množstvo kolagénu v ľavej komore.

Práca bola podporená grantmi: APVV-21-0194, APVV-18-0548, VEGA 2/0104/20 a 1/0775/21.

POKLES AKTIVITY SYMPATIKOVÉHO NERVOVÉHO SYSTÉMU U HYPERTENZNÝCH POTKANOV ODCHOVANÝCH NÁHRADNOU NORMOTENZNOU MATKOU

Babaríková K.¹, Kopkan L.², Molčan L.¹

¹*Katedra živočíšnej fyziológie a etológie, PRIF UK, Bratislava*

²*Inštitút klinickej a experimentálnej medicíny, Praha*

Úvod: Nárast tlaku krvi (TK) môže byť podmienený geneticky, avšak významne závisí aj od životného štýlu jedinca (strava s vysokým obsahom soli, fajčenie, stres a.i.). Navyše, experimenty ukazujú, že prostredie, ktorému bol jedinec vystavený ešte v čase raného vývinu, môže mať zásadný vplyv na fungovanie kardiovaskulárneho systému v dospelosti. Krátko po narodení sa totiž stále vyvíjajú systémy zapojené do regulácie TK vrátane autonómneho nervového (ANS). Vystavenie rôznym faktorom prostredia v období krátko po narodení tak môže ovplyvniť maturáciu ANS natoľko, že jeho aktivita bude v dospelosti pozmenená, čo sa napokon prejaví poklesom či nárastom TK. Experimentálne bolo dokázané, že pokiaľ boli potkany s geneticky podmienenou hypertenziou odchované náhradnou matkou iného kmeňa, tak v dospelosti mali významne nižší TK. Preto cieľom našej práce bolo odmerať vývinové zmeny ANS a expresiu proteínov súvisiacich s kontraktilitou a remodeláciou steny aorty u potkanov so zvýšenou aktivitou renín-angiotenzín-aldosterónového systému (RAAS) – transgénnych TGR(mRen-2)²⁷ potkanov (TGR), ktoré boli odchované normotenznými Sprague-Dawley (HanSD) samicami.

Metodika: Z telemetricky meraných dát sme hodnotili TK, frekvenciu srdca, senzitivitu baroreflexu a aktivitu ANS (pomocou markerov analýzy beat-to-beat variability frekvencie srdca) u 5-, 6-, 8- a 10-týždňových samčích, voľne pohyblivých potomkov. Jedným z komponentov RAAS je hormón aldosterón, ktorý aktiváciou mineralokortikoidného receptora (MR) stimuluje kontrakciu cievnej steny a tvorbu profibrotických faktorov vrátane transformujúceho rastového faktora beta 1 (TGF- β 1). V hrudnej aorte 6-, 8-, 10- a 12-týždňových samčích potomkov sme preto merali expresiu MR a TGF- β 1 metódou Western blot.

Výsledky: TGR mali významne ($p < 0.001$) vyšší systolický aj diastolický TK oproti HanSD od 6. týždňa po narodení. Odchov náhradnou matkou sa neprejavil zmenami TK, avšak významne sa prejavil na úrovni autonómnej regulácie TK. Zatiaľ čo u TGR sme pozorovali len mierny vývinový pokles aktivity sympatikového nervového systému (SNA) v tmavej fáze ($0,33 \pm 0,03$ v 5. týždni vs $0,30 \pm 0,03$ v 10. týždni), u TGR odchovaných HanSD matkou (TGRx) sme v tmavej fáze pozorovali významný vývinový pokles SNA ($0,26 \pm 0,04$ v 5. týždni vs $0,18 \pm 0,02$ v 10. týždni). TGRx mali taktiež významne nižšiu 24-hodinovú amplitúdu ($p < 0.05$) TK než kontrolné TGR. V hrudnej cieve 10-týždňových ($p < 0.001$) a 12-týždňových ($p = 0.036$) TGR sme namerali významne vyššiu expresiu MR v porovnaní s HanSD. 12-týždňové TGR mali taktiež významne ($p = 0.002$) vyššiu expresiu TGF- β 1 oproti HanSD potomkom. Odchov náhradnou matkou prechodne znížil expresiu MR u TGRx v 6. ($p = 0.010$) a 10. ($p = 0.016$) týždni po narodení.

Záver: Vývinový vzostup TK je u TGR sprevádzaný zvýšenou SNA v tmavej fáze dňa, zvýšenou 24-hodinovou amplitúdou TK a zvýšenou expresiou MR a TGF- β 1 v hrudnej aorte. TGRx, ktoré boli od narodenia dojčené HanSD matkami, mali aj niekoľko týždňov po odstave významne nižšiu SNA v tmavej fáze, a taktiež významne nižšiu expresiu meraných proteínov. Hoci sme u TGRx nepozorovali pokles TK, naše výsledky demonštrujú, že odchov náhradnou matkou má významné programovacie účinky na ANS potkanov s geneticky podmienenou hypertenziou.

Práca bola podporená grantom APVV-21-0223. Ďakujeme taktiež Mgr. Pavlovi Svitkovi, PhD. za poskytnutie vzoriek a telemetrických dát, ktoré sme v práci hodnotili.

VPLYV ANTAGONISTU MINERALOKORTIKOIDNÝCH RECEPTOROV NA INVERZNÝ 24-HOD PROFIL TLAKU KRVÍ U HYPERTENZNÝCH TRASGÉNNÝCH (MREN-2)27 POTKANOV S DÔRAZOM NA ÚLOHU OBLIČIEK

Šutovská H.¹, Molčan L.¹, Majzúnová M.¹, Kopkan L.², Zeman M.¹

¹Katedra živočíšnej fyziológie a etológie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Bratislava

²Institut klinické a experimentálnej medicíny, Praha

Úvod: Renín-angiotenzín-aldosterónový systém je dôležitým regulačným mechanizmom tlaku krvi (TK), objemu tekutín a rovnováhy sodíka a draslíka, pričom jeho zvýšená aktivita zvyšuje TK a súvisí aj so vznikom inverzného 24-hod profilu TK. Lozartan (AT1-receptorový antagonista) obnovuje inverzný 24-hod profil TK. Aktivácia AT1 receptora sprostredkúva ako vazokonstrikciu, tak aj sekréciu aldosterónu, ktorý ovplyvňuje homeostázu sodíka a vody, a tým kontrolu TK.

Ciel: Predpokladáme, že zvýšená hladina aldosterónu v pasívnej fáze dňa u hypertenzných trasgénnych (mRen-2)27 potkanov (TGR) sa môže podieľať na rozvoji inverzného 24-hod rytmu TK. Blokáda aldosterónu preto môže znížiť TK a obnoviť inverzný 24-hodinový rytmus TK a to zlepšením funkcie obličiek, zlepšením hospodárenia s vodou a sodíkom u TGR počas diéty s normálnym a vysokým obsahom soli.

Metodika: Samcom TGR (14-16 týždňov) s rozvinutou hypertenziou a inverzným 24-hod profilom TK sme subkutánne implantovali spironolaktónové pelety (30 mg/kg/deň) s kontinuálnym uvoľňovaním. Potkany mali prvých 10 dní neobmedzený prístup k strave a vode s normálnym obsahom soli. Ďalších 10 dní dostávali vodu s vysokým obsahom soli (1%). TK sme počas experimentu merali telemetriou (DSI, USA). Vplyv spironolaktónu na 24-hod rytmus TK sme hodnotili pomocou zmien v amplitúde, % rytmu a akrofázy TK. Funkciu obličiek sme hodnotili ako zmeny v diuréze, natriuréze, albumínurii, vylučovaní draslíka a 8-izoprostánu močom u zvierat v metabolických klietkach na 8. a 18. deň experimentu.

Výsledky: Spironolaktón nemal vplyv na TK v svetlej ani tmavej fáze dňa počas diéty s normálnym ani vysokým obsahom soli. Vysoká soľ zvýšila TK ($p < 0,001$) počas svetlej, ale výraznejšie počas tmavej fázy dňa. Spironolaktón neovplyvnil 24-hod profil TK, jeho amplitúdu, % rytmu a akrofázu počas diéty s normálnym ani vysokým obsahom soli. Diéta s vysokým obsahom soli potlačila 24-hod rytmus TK ($p < 0,001$), znížila amplitúdu, % rytmu a posunula akrofázu do tmavej fázy dňa. Spironolaktón signifikantne znížil albumínuriu ($p < 0,01$), avšak nemal vplyv na diurézu, natriurézu a vylučovanie draslíka. Zvýšený príjem soli zvýšil diurézu ($p < 0,001$), nátriurézu ($p < 0,001$), albumínuriu ($p < 0,001$) a vylučovanie 8-izoprostánu močom ($p < 0,001$). Spironolaktón v kombinácii s vysokou soľou znížil albumínuriu ($p < 0,01$) a vylučovanie 8-izoprostánu močom ($p < 0,01$).

Záver: Spironolaktón mal protektívne účinky na obličky u TGR počas diéty s normálnym aj vysokým obsahom soli. Protektívne účinky spironolaktónu však neboli asociované so znížením TK a obnovením inverzného 24-hod rytmu u TGR. Preto predpokladáme, že iné biologické mechanizmy závislé od angiotenzínu II sú kľúčové pri vzniku inverzného 24-hod profilu TK u TGR.

Práca bola podporená grantom APVV-21-0223.

VARIA I

KOMPARATÍVNA ANALÝZA KOLOREKTÁLNEHO KARCINÓMU S VYUŽITÍM ZYMOGRAFIE

Večurková I., Mašlanková J., Stupák M., Roškovičová V.

Ústav lekárskej a klinickej biochémie, Lekárska fakulta, Univerzita Pavla Jozefa Šafárika, Košice

Zymografia je elektroforetická metóda prebiehajúca na polyakrylamidovom géli za prítomnosti dodecylsulfátu sodného (SDS-PAGE), ktorá sa používa na detekciu enzymatickej aktivity a molekulovú charakterizáciu proteínov. Na rozdiel od štandardnej metódy SDS-PAGE sa pri zymografii do gélu inkorporuje substrát, ktorý je následne štiepený cieľovými proteázami. Mnohé štúdie zamerané na vznik a progresiu zápalových

ochorení gastrointestinálneho traktu vyzdvihujú v týchto procesoch úlohu tzv. matrixových metaloproteináz (MMP). Z viacerých skupín tejto rodiny Zn-dependených endopeptidáz je práve skupina želatináz, ktorej preferovaným substrátom je degradovaný kolagén, zodpovedná za degradáciu extracelulárneho matrixu (ECM), migráciu buniek, angiogénu a priebeh ďalších kľúčových zápalových procesov. Cieľom našej štúdie bolo pomocou zymografie a následnej analýzy v počítačovom programe ImageJ stanoviť množstvo aktívnych a neaktívnych foriem MMP-2 a MMP-9. Analyzovanú vzorku tvorili tkanivové homogenáty 32 pacientov, ktorí podstúpili operačný zákrok kvôli nálezom na hrubom čreve a/alebo konečníku. Kontrolnú skupinu tvorilo 8 pacientov s benígnym nálezom (divertikulitída, hemoroidy, adenóm), zvyšné skupiny tvorili pacienti histologicky začlenení do prvého, druhého, alebo tretieho štádia kolorektálneho karcinómu (CRC). Zistili sme, že pomer aktívnych foriem k neaktívnym pro-formám MMP-9 koreluje so štádiom CRC. Štatisticky signifikantný rozdiel medzi skupinami sa prejavil pri porovnaní kontrolnej skupiny s tretím štádiom CRC ($p=0,003^{**}$). Záverom teda môžeme uviesť, že vo vyšších štádiách CRC sa výraznejšie zvyšujú hladiny aktívnej MMP-9, ktorá zrejme má kľúčovú úlohu pri prejavovaní agresivity nádoru. V dôsledku našich výsledkov by teda bolo možné zaradiť inhibíciu aktivácie MMP-9 k metódam cielenej liečby CRC. Rovnako tak si myslíme, že podstatné rozdiely medzi pozorovanými skupinami podporujú predpoklad pre integráciu zymografie do klinickej diagnostiky.

VPLYV FOTOBIMODULAČNÉHO ŽIARENIA NA BUNKY FIBROBLASTOV V PROCESE FOTODYNAMICKEJ TERAPIE

Olejárová S.¹, Huntošová V.²

¹Katredra biofyziky, Prírodovedecká fakulta Univerzity P.J. Šafárika, Košice

²Centrum interdisciplinárnych bioviéd, Technologický a inovačný park Univerzity P.J. Šafárika, Košice

Úvod: Fotodynamická terapia (PDT) je liečba, ktorá kombinuje svetlo, kyslík a fotosenzibilizátor, ktorý je prednostne absorbovaný nádorovými bunkami, na vytvorenie oxidačného stresu v bunkách. Jednou zo svetlom (s vlnovou dĺžkou ~ 590 nm) aktivovateľných molekúl je hypericín. Aktivovaný v procese PDT indukuje bunkovú apoptózu prostredníctvom stimulácie mitochondriálnej kaspázovej dráhy, čo vedie k deštrukcii nádorových buniek. Naproti tomu, fotobimodulácia (PBM) využíva svetlo v blízkej infračervenej oblasti, ktorým je možné stimulovať alebo inhibovať procesy na bunkovej a molekulárnej úrovni, primárne v kontexte vplyvu na mitochondriálne dráhy. Mechanizmus, ktorý spúšťa aktiváciu týchto dráh, je stále nejasný. Niektoré výsledky poukazujú na pozitívny účinok PBM v kombinácii s PDT. Príkladom je aplikácia kombinovanej PBM pri 808 nm s hypericínom sprostredkovanou PDT pri 590 nm, kde bolo dokázané zvýšenie účinnosti PDT v bunkách glioblastómu. Napriek snahe špecificky cieľť PDT do nádorového tkaniva, pri aplikácii PDT môže byť časť svetlo citlivej látky absorbovaná aj zdravými nenádorovými bunkami. V ľudských dermálnych fibroblastoch bolo dokázané, že kombinácia PBM a PDT stimuluje autofágiu a apoptózu. Avšak tieto účinky boli menej výrazné v nenádorových bunkách v porovnaní s nádorovými. Zdá sa, že poradie v akom po sebe nasledujú PBM a PDT je dôležité. Preto sme sa v našej práci zamerali na testovanie účinkov PBM po aplikovanej PDT na metabolickú aktivitu buniek a morfológické zmeny v ľudských dermálnych fibroblastoch (HDF).

Metodika: Kultivácia HDF buniek prebiehala pri štandardných podmienkach, v kompletnom médiu RPMI 1640 pri 37°C a 5% CO₂. Po dosiahnutí 80 % konfluencie bol hypericín pridaný do kultivačného média. Po 3 hod inkubácii s hypericínom v tme, bolo bunkám vymenené médium a aplikovaná PDT (2 J/cm²). Po 24 h sme aplikovali PBM (2 J/cm²). Experimentálne skupiny tvorili: PDT, PBM, kombinovaná terapia (PDT+PBM) a kontrolná skupina (0 J/cm²). Metabolická aktivita mitochondrií bola hodnotená MTT testom. Morfológické zmeny boli hodnotené prostredníctvom invertovaného fluorescenčného mikroskopu (imunofarbenie HDF buniek β-aktínom pre vizualizáciu cytoskeletu, farbenie jadier Hoechst a protilátkou pre komplex V dýchacieho reťazca). Živé mitochondrie boli značené rodamínom 123.

Výsledky: Hypericínom sprostredkovaná PDT významne znížila metabolickú aktivitu HDF buniek (ANOVA, $p < 0,001$). Aplikácia samotného fotobiomodulačného žiarenia zvýšila úroveň metabolickej aktivity po aplikácii hypericínu v závislosti od koncentrácie (Tukey post-hoc test, $p < 0,01$). Metabolická aktivita HDF bola po kombinovanej terapii (PDT + PBM) signifikantne vyššia v porovnaní s PDT (Tukey post-hoc test, $p < 0,001$). β-aktín bol v kontrolnej skupine (0 J/cm²) homogénne distribuovaný v celej cytoplazme, tvoriac majoritne vlákna a minoritne aj granulovaný vzor. Po PBM a kombinovanej terapii (PDT + PBM) boli vláknité filaments viac sprevádzané granulárnymi štruktúrami v porovnaní s kontrolnými podmienkami. Preukázali sme rozdielnu distribúciu mitochondrií v HDF bunkách medzi jednotlivými skupinami (ANOVA, $p < 0,001$). Tukey post-hoc test potvrdil, že po hypericínom sprostredkovej PDT bol mitochondrion lokalizovaný majoritne okolo jadier a celková oblasť mitochondriálnej distribúcie bola výrazne menšia v porovnaní so skupinou 0 J/cm² a PDT+PBM.

Záver: PBM má schopnosť zvyšovať metabolickú aktivitu HDF buniek po aplikácii hypericínu v závislosti od koncentrácie. Mitochondrie v HDF bunkách boli viac poškodené po liečbe PDT v porovnaní s kontrolou a kombinovanou liečbou. Pozorovali sme morfológické zmeny β-aktínu po PBM a PDT+PBM v porovnaní s podmienkami 0 J/cm². Naše výsledky naznačujú, že PBM môže byť nápomocná pri regenerácii okolitých nenádorových buniek po PDT.

Podporené grantami APVV-20-0340 a EU H2020 (No. 952333), CasProt.

VLIV CYSTATHIONIN-β-SYNTÁZY NA ORGANIZACI CYTOSKELETU A MODULACI KARCINOGENEZI V BUŇKÁCH KOLOREKTÁLNIHO KARCINOMU

Lišková V.¹, Chovancová B.¹, Babula P.², Režuchová I.³, Ploth Pavlov K.⁴, Matúšková M.⁴, Križanová O.^{1,2}

¹Ústav klinického a translačného výskumu, Biomedicínske centrum SAV, v. v. i., Bratislava

²Fyziologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno

³Virologický ústav, Biomedicínske centrum SAV, v. v. i., Bratislava

⁴Ústav experimentálnej onkológie, Biomedicínske centrum SAV, v. v. i., Bratislava

Úvod: Cystathionin-β-syntáza (CBS), jeden ze tří enzymů, které endogenně produkují sirovodík, je pro svůj význam rozsáhle studován v mnohých nádorových buňkách. V naší předchozí práci jsme pozorovali, že při imunofluorescenci CBS vykazuje podobný morfológický vzor jako tubulin a aktin. Proto jsme se zaměřili na potenciální interakci

CBS s cytoskeletálnymi proteínymi β -aktinom a β -tubulinom a funkčnú relevanciu potenciálnej interakcie týchto proteínov v bunčných líniiach kolorektálneho karcinomu. Predpokladáme, že tento enzým (a endogénne produkovaný H₂S) by mohol ovplyvniť liečbu kolorektálneho karcinomu napríklad pomocou látok modulujúcich cytoskelet, akými sú taxany a/alebo vinka alkaloidy.

Metódy: Pre štúdium potenciálnej interakcie CBS s cytoskeletálnymi proteínymi a ich funkčných dôsledkov bola pomocou metódy úpravy génu CRISPR/Cas9 pripravená bunčná línia DLD1 s vyrazeným génom pre CBS (DLDx). Interakcia vybraného cytoskeletálneho proteínu s CBS bola študovaná imunoprecipitáciou, analýzou Western blot, imunofluorescenciou a „proximity ligation assay“. Funkčné dôsledky boli študované proliferačnými a migračnými testami a vplyv vyrazenia CBS na rast nádoru bol sledovaný pomocou xenograftov u SCID/bg myši.

Výsledky: Zistili sme, že CBS enzým, ktorý endogénne produkuje H₂S, sa väže na cytoskeletálny β -tubulin a v menšej miere tiež na β -aktín v bunkách odvodených od kolorektálneho karcinomu. Keď bol CBS vydeletovaný technikou CRISPR/Cas9 (DLDx), pozorovali sme neusporiadaný cytoskelet v srovnaní s nemodifikovanou bunčnou líniou DLD1. Ovlivnenie týchto buniek pomaly uvoľňujúcim sa donormom sulfidu GYY4137 vedlo k opätovnej normalizácii organizácie cytoskeletu, čo by mohlo poukazovať na rolu CBS v dynamike mikrotubulov. Pre vyhodnotenie fyziologickej dôležitosti tohto pozorovania boli ako DLD1, tak DLDx bunky injektované SCID/bg myšami a bola vyhodnotená veľkosť/hmotnosť vyvinutých xenograftov. Z DLDx sa vyvinuli výrazne väčšie nádory v srovnaní s bunkami DLD1, čo korelovalo so zvýšenou proliferáciou týchto buniek.

Záver: V bunkách kolorektálneho karcinomu DLD1 sa CBS väže na cytoskelet, moduluje dynamiku mikrotubulov a ovplyvňuje tak proliferáciu ako i migráciu.

Táto práca bola financovaná z grantu Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky nr. 2019/58-BMCSAV-2 a čiastočne z grantov APVV-16-0246, APVV-20-0176 a VEGA 2/0047/22.

ÚLOHA TRANSPORTU VÁPNIKA V TUMORIGENÉZE

Križanová O., Chovancová B., Lišková V.

Ústav klinického a translačného výskumu BMC SAV, v.v.i., Bratislava

Úvod: Vnútro bunkové vápenaté ióny patria k najrozšírenejším signálnym molekulám, ktoré plnia širokú škálu úloh vo fyziologických, ale aj patofyziologických podmienkach. Je zrejmé, že vnútro bunková vápniková homeostáza je v nádorových bunkách pozmenená a tieto zmeny participujú pri vzniku nádoru, angiogenéze, progresii a tvorbe metastáz. Taktiež, zmeny v transporte vápenatých iónov výrazne ovplyvňujú aj apoptózu – riadenú bunkovú smrť. Mechanizmus signalizácie závisí od transportného systému, ktorým sa vápnik do cytosólu dostáva. Naš tím sa dlhodobo zaoberá úlohou dvoch transportných systémov – sodíkovovo-vápnikového výmeníka (NCX) a inozitol 1,4,5-trisfosfátových receptorov (IP3R) v karcinogenéze.

Metódy: Na štúdium funkcie NCX a IP3R sme použili nasledovné metódy: meranie vnútro bunkového pH, meranie cytosolického sodíka a vápnika, utlmenie génov, Western blot analýzu, imunoprecipitáciu, stanovenie apoptózy, „wound healing assay“, imunofluorescenciu a in vivo experimenty na imunodeficientných myšiach.

Výsledky: Ukázali sme, že v hypoxických podmienkach sa NCX1 otáča do tzv. reverzného módu, kedy transportuje vápenaté ióny dovnútra bunky a sodíkové ióny von z bunky. Spolu s ďalšími proteínmi vytvára membránový metabolón, ktorý efektívne vypudzuje protóny von z bunky a tak formuje vhodné prostredie pre migráciu nádorových buniek. Na rozdiel od tohoto transportného systému, typ 1 IP3R transportuje vápnik von z endoplazmatického retikula do blízkosti mitochondrií a aktivuje tzv. vnútornú, mitochondriálnu dráhu apoptózy. Napriek pomerne vysokej homológii IP3R1 a IP3R3 majú tieto transportné systémy opačnú funkciu – IP3R3 pôsobí antiapopticky, čo podporuje aj zistenie, že v bunkách svetlobunkového karcinómu obličky bola expresia IP3R1 potlačená, zatiaľ čo expresia IP3R3 bola zvýšená.

Záver: Ukázali sme, že zatiaľ čo NCX1 sa podieľa na prežívaní hypoxických nádorových buniek tým, že upravuje vnútrobunkové pH pri acidifikácií, IP3R pôsobí proapopticky (IP3R1, IP3R2), alebo antiapopticky (IP3R3) v závislosti od typu tohoto transportného systému. Pochopenie úlohy vápnikového transportu cez jednotlivé transportné systémy pre vápnik by mohlo byť odrazovým mostíkom pre vývoj nových stratégií na liečbu vybraných tumorov.

Táto práca bola financovaná z grantov APVV-16-0246, APVV-20-0176 a VEGA 2/0040/22.

POMALÝ SULFIDOVÝ DONOR GYY4137 POSILŇUJE ÚČINOK PAKLITAXELU V BUNKÁCH KOLOREKTÁLNEHO KARCINÓMU

Chovancova B.¹, Liskova V.¹, Babula P.², Krizanova O.^{1,2}

¹Ústav klinického a translačného výskumu, Biomedicínske centrum Slovenskej akadémie vied, Bratislava

²Fyziologický ústav, Lekárska fakulta, Masarykova univerzita, Brno

Úvod: Paklitaxel (PTX) je jedno z najviac využívaných chemoterapeutík pri rôznych druhoch nádorov. Podporuje polymerizáciu a stabilizáciu mikrotubulov v bunke tým, že inhibuje ich depolymerizáciu, výsledkom čoho je zablokovanie bunkového delenia. PTX sa na liečbu kolorektálneho karcinómu nevyužíva z dôvodu jeho nízkej účinnosti na tento typ nádoru. Kvôli obmedzenému počtu chemoterapeutík, ktoré je možné na liečbu kolorektálneho karcinómu využiť, výskum zameraný na zvýšenie citlivosti PTX na tento typ nádorov je zaujímavým onkologickým smerom. V práci sme sa zamerali na sledovanie účinku paklitaxelu v kombinácii s pomalým sulfidovým donorom (GYY4137) na bunky kolorektálneho karcinómu. H₂S je významný plynný transmitter, ktorý reguluje viaceré metabolické dráhy.

Metodika: Ako model kolorektálneho karcinómu sme vybrali tri stabilné nádorové bunkové línie – HCT116, SW620 a DLD1. Porovnávali sme IC₅₀ vplyvom samotného PTX a PTX v kombinácii s GYY4137. Sledovali sme vplyv na apoptózu, bunkový cyklus, množstvá ATP a zmeny v intracelulárnom pH v jednotlivých typoch nádorových buniek a tiež vplyv na rast xenograftov v imunodeficientných myšiach.

Výsledky: Vo všetkých troch líniách sme pozorovali signifikantne nižšie hodnoty IC₅₀ v kombinácii PTX/GYY4137 v porovnaní so samotným PTX. Zaznamenali sme zastavenie bunkového cyklu v G₂/M fáze vplyvom PTX a zmeny v S-fáze bunkového cyklu u HCT116 a DLD1 buniek ovplyvnených s PTX/GYY4137, nie však na SW620 bunkách. Apotóza bola signifikantne zvýšená po pridaní PTX/GYY4137 v porovnaní so samotným

PTX. Tento nárast sme nepozorovali v nenádorovej bunkovej línii EA.Hy926. Zvýšené hladiny IP3R1 proteínu naznačujú účasť tohto vápnikového transportéra v indukcii apoptózy. Vplyvom PTX došlo k zníženiu ATP, zatiaľ čo vplyvom PTX/GYY4137 zmeny v ATP neboli pozorované. GYY4137 má pravdepodobne ochranný efekt voči vyčerpaniu ATP. PTX spôsobilo acidifikáciu vnútrobunkového pH a tento efekt bol zvýraznený použitím kombinácie PTX/GYY4137. Kombinácia PTX/GYY4137 významne spomalila rast xenograftov, čo poukazuje na efektívnosť danej kombinácie.

Záver: Zistili sme, že použitím pomalého sulfidového donora GYY4137 je možné zvýšiť citlivosť buniek kolorektálneho karcinómu na liečbu PTX, pravdepodobne aktiváciou apoptózy.

Tento výskum bol podporený grantom Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky nr. 2019/58-BMCSAV-2 a čiastočne grantami APVV-20-0176 a VEGA 2/0040/22.

ÚČINKY MIR-34A-5P NA EXPRESIU KOMPONENTOV CIRKADIÁNEHO OSCILÁTORA V BUNKOVEJ LÍNII KOLOREKTÁLNEHO KARCINÓMU DLD1 SÚ MODULOVANÉ 2.4 GHZ ŽIARENÍM

Herichová I., Moravčík R., Olejárová S.

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

miRNA sú malé nekódujúce molekuly RNA, ktoré prostredníctvom svojich rezponzívnych elementov, lokalizovaných najčastejšie v neprepisovanej oblasti mRNA, inhibujú transkripciu jedného alebo viacerých cieľových génov. V práci Hasákova a kol. (2019) bola u pacientov preukázaná negatívna korelácia medzi expresiou hodinového génu *per2* a hladinami miR-34a-5p v nádorovom tkanive kolorektálneho karcinómu (KRK). Naším cieľom bolo validovať tento regulačný vzťah v in vitro podmienkach.

Za účelom preukázania regulačného vplyvu miR-34a-5p na expresiu *per2* sme využili dve bunkové línie kolorektálneho karcinómu, DLD1 a LoVo, ktoré sa odlišujú vo funkčnosti p53 dráhy (DLD1 bunky nesú mutáciu v TP53 géne). Vplyv miR-34a-5p bol testovaný pomocou syntetických oligo so sekvenciou dominantného vlákna miR-34a (mimiky) a/alebo inhibítorov miR-34a, ktoré miR-34a-5p viažu a bránia im v ich funkcii. Génová expresia miRNA a mRNA bola stanovovaná pomocou real time PCR z buniek. Keďže incidencia a priebeh KRK vykazujú od pohlavia závislé charakteristiky testovali sme tiež vplyv 17 β -estradiolu (E2) aplikovaného v koncentrácii 10-100 nM na viabilitu a migráciu DLD1 buniek. Overovali sme tiež možnosť, že účinky miR-34a-5p sú modulované 2,4 GHz žiarením (RF-EMF), ktoré bolo aplikované po dobu 48 hodín, keďže pacienti s nádorovými ochoreniami sú vo všeobecnosti kontraindikovaní na elektroliečbu, ale expozícia populácie vysokofrekvenčným žiarením neustále narastá.

Naše výsledky presvedčivo a opakovane potvrdili, že miR-34a-5p inhibuje expresiu hodinového génu *per2* v oboch bunkových líniiach. Tento regulačný vzťah je v súlade s in silico analýzou (TargetScanHuman 7.2). Zároveň sme zaznamenali inhibičný vplyv miR-34a-5p na úrovni expresie hodinového génu *bmal1* a hodinami kontrolovaného génu *rev-erb α* . Mimik miR-34a-5p taktiež inhiboval expresiu mRNA sirtuínu 1, cyklínu D1 a survivínu a viabilitu nádorových buniek DLD1.

E2 významne znižoval viabilitu a migráciu DLD1 buniek avšak nepreukázali sme interferenciu s tumor-supresorovým účinkom miR-34a-5p.

Na druhej strane, zaznamenali sme regulačnú interferenciu medzi miR-34a-5p a RF-EMF, keďže stimulačný vplyv miR-34a-5p na expresiu mRNA cry1 bol podmienený vystavením DLD1 buniek tomuto fyzikálnemu vplyvu. RF-EMF znižovalo responzivnosť expresie per2 a survivínu na podanie miR-34a-5p (Olejárová a kol., 2022).

Naše výsledky implikujú, že tumor supresorové účinky známych génov môžu byť modulované nie len humorálnymi, ale aj fyzikálnymi interakciami, ktorých vplyv na živé organizmy neustále narastá.

Hasakova K, Reis R, Vician M, Zeman M, Herichova I. PLoS One. 2019; 14(10):e0224396.

Olejárová S, Moravčík R, Herichová I. Int J Mol Sci. 2022; 23(21):13210.

PodĎakovanie: Autori ďakujú Ing. I. Balajovi za pomoc pri definovaní RF-EMF. Výskum bol podporený grantami APVV-16-0209 a APVV-20-041.

SFÉROIDY ĽUDSKÉHO GLIOBLASTÓMU U87MG NA MODELI PREPELIČEJ CHORIOALANTOICKEJ MEMBRÁNY AKO PREDKLINICKÝ MODEL PRI ŠTÚDIU FOTODYNAMICKEJ TERAPIE

Máčajová M.¹, Meta M.¹, Čavarga I.¹, Pevná V.², Huntošová V.², Bilčík B.¹

¹Ústav biochémie a genetiky živočíchov CBv SAV v.v.i, Bratislava

²Centrum interdisciplinárnych bioviéd, Technologický a inovačný park, UPJŠ, Košice

Úvod: Ako model pre štúdium ľudského glioblastómu sme si zvolili chorioalantoickú membránu (CAM), ktorá je vďaka svojim morfológickým a funkčným parametrom vhodná pre výskum v oblasti fotodynamickej diagnostiky a terapie (PDT).

Metodika: Použili sme ex ovo CAM embrya prepelice japonskej. Embryá boli inkubované pri teplote 37°C a relatívnej vlhkosti 50-60%. Na 7. deň embryonálneho vývinu (ED7) sme na povrch CAM preniesli pripravené U87MG sféroidy a nechali ďalej inkubovať do ED11, kedy sme sféroidy ohraničili silikónovými krúžkami, do ktorých sme aplikovali 30 µl 500 nM a 10 µM hypericínu v PBS s následným 4 min ožarovaním 405 nm (285 mW/cm²). Fluorescenčné snímky sme získali pomocou digitálneho fotoaparátu v rôznych časových intervaloch po aplikácii hypericínu. Počas ED12 bolo tkanivo CAM histopatologicky spracované, v rovnaký deň boli odobrané aj vzorky na stanovenie géovej expresie proangiogénnych a zápalových faktorov pomocou qPCR.

Výsledky: Sféroidy U87MG boli 4-5 dní po aplikácii na CAM viditeľné aj voľným okom. Fluorescenčnú farmakokinetiku v ultrafialovom svetle (405 nm) počas 0, 1, 3, 5 a 24 h sme pozorovali najmä po aplikácii vyššej dávky hypericínu, pričom fotodiagnostika bola možná už od 1 h po lokálnom podaní hypericínu.

Pri nižšej koncentrácii hypericínu sme po PDT pozorovali oddelenie a uvoľnenie periférnych buniek sféroidov a ich fotopoškodenie v oblasti aplikácie hypericínu, avšak sme zaznamenali žiadny významný rozdiel vo veľkosti sféroidov v porovnaní s kontrolou. qPCR analýza odhalila niektoré významné rozdiely v expresii génov súvisiacich s imunitnou odpoveďou organizmu. Po aplikácii hypericínu sme pozorovali vyššiu expresiu IL-8 a TLR-7, najmä pri aplikácii hypericínu v tme. Po 24 hodinách od liečby nedošlo k významným zmenám v expresii génov VEGF-A a Quek1, ale po aplikácii sféroidov sme zaznamenali zvýšenie ich expresie v porovnaní s tkanivom bez sféroidov. Záver: Podarilo sa nám vytvoriť model glioblastómových sféroidov na modeli CAM prepelice japonskej, ktorý sa môže použiť v budúcich štúdiách PDT, rovnako ako pri skríningu rôznych liečiv, doručovacích systémov a iných terapií.

Práca bola podporená grantami: VEGA 2/0042/21, APVV-20-0129 a VVGS-2022-2184.

HYPOXIA-INDUCIBLE FACTORS ACTIVATOR, ROXADUSTAT, INCREASES PULMONARY VASCULAR RESISTANCE IN RATS

Novák T., Žaloudíková M., Smolková P., Kaftanová B., Hampl V.

Department of Physiology, 2nd Faculty of Medicine, Charles University, Prague

Introduction: Prolyl hydroxylases are an essential element of the O₂-dependent regulation of hypoxia-inducible factors (HIFs) that govern many responses to hypoxia, including erythropoiesis. Their role in the regulation of the pulmonary vascular bed and pulmonary vasoreactivity is likely but not much characterized. Pharmacological agents such as roxadustat that – like hypoxia – inhibit prolyl hydroxylases and thus increase HIF activity are a promising option for treating anemias. A possible side effect of such a therapy could be alteration of pulmonary circulation that is, similarly to erythropoiesis, markedly regulated by hypoxia. Many - though not all - pulmonary vascular changes in chronic hypoxia are mediated by HIFs. Alterations of acute hypoxic pulmonary vasoconstrictor reactivity by HIFs are possible. Thus, we tested the hypothesis that roxadustat administration increases pulmonary vascular resistance and vasoconstrictor reactivity.

Methods: Adult male rats were treated with roxadustat (10 mg/kg BW i.p. every other day dissolved in DMSO+PEG+TWEEN 80) for 2 days (n=9) or 2 weeks (n=9) and compared to controls receiving only vehicle (n=8). To evaluate pulmonary vasoconstrictive properties, perfusion pressure-flow (P/Q) curves were analyzed in isolated ventilated lungs perfused with cell-free Krebs-albumin solution. Furthermore, vasoconstrictor reactivity (to 0.15 µg angiotensin II and to acute 0% O₂) was also measured in the same lungs.

Results: As expected, roxadustat increased hematocrit significantly after 2 weeks of treatment (46.6 ± 1.8 [SD] % vs. 39.7 ± 2.5 in controls), but not after 2 days (41.8 ± 2.3). The slope of the linear part of the P/Q curves did not differ among the groups (i.e., the lines were parallel), whereas the intercept with the pressure axis was increased by roxadustat already after 2 days of treatment (from 2.6 ± 1.4 mmHg in controls to 4.2 ± 1.5) and did not further change after 2 weeks (3.9 ± 1.5). Consistent with this, the pressure in the pulmonary circulation after stopping the flow was lower in controls (0.02 ± 0.6 mmHg) than after roxadustat treatment irrespective of its length (0.76 ± 0.42 after 2 days and 0.84 ± 0.61 after 2 weeks of roxadustat). The magnitude of the pressor responses to angiotensin II and acute hypoxia did not differ significantly among the groups.

Conclusions: Inhibition of prolyl hydroxylases (and thus HIF activation) by roxadustat elevates pulmonary vascular critical closing pressure (as indicated by increased P/Q intercepts and stop-flow pressures), thus shifting pressures at any given flow rate to higher values, independently of the effect on hematocrit. This pulmonary hypertension-promoting effect should be taken into consideration in future therapeutic utilization of roxadustat and similar agents. In line with our previous observations that essential changes in the development of chronic hypoxic pulmonary hypertension occur during the first few days of hypoxic exposure, the effect of roxadustat on the pulmonary vascular resistance is faster (already after 2 days of treatment) than that on hematocrit

(only after 2 weeks). Unlike pulmonary vascular resistance, the acute pulmonary vasoconstrictor reactivity (to angiotensin II and 0%O₂) is not affected by roxadustat and thus, apparently, the HIF-related processes do not play significant roles in their mechanisms.

ADVANCE IN THE RESEARCH OF THE RELAXANT EFFECT OF PULMONARY SURFACTANT ON AIRWAY SMOOTH MUSCLE USING ATOMIC FORCE MICROSCOPE

Hanusrichterova J.¹, Mukherjee P.², Calkovska A.¹, Amrein M.²

¹Department of Physiology, Jessenius Faculty of Medicine in Martin, Comenius University

²Department of Cell Biology and Anatomy, Health Sciences Centre, Cumming School of Medicine, University of Calgary

Introduction: Pulmonary surfactant is a lipid-protein substance lining the alveolar and airway epithelium. It reduces surface tension in airways and prevents their collapse, maintains bronchiolar patency, enhances pathogen uptake (Wright 2005), and relaxes airway smooth muscle (ASM). Surfactant relaxes ASM via intact epithelium and synthesis of prostanoids (Koetzler et al., 2006). However, pharmacological relaxant mechanism remains unclear. Whether surfactant masks irritant sensory receptors or interacts with one of them is not known. Tissue organ bath with animal muscle strips is conventional method for ASM reactivity assessment. Here, we propose an alternative setup, based on cultures of human airway smooth muscle cells and measure of the contractile state from the cell stiffness. Stiffness of live cells reflects cytoskeletal structure (Thomas et al., 2013) and activation of contractile apparatus (An et al., 2002). Atomic force microscope is an excellent, fast, and convenient method for stiffness evaluation of living cells and investigation of surfactant relaxant effect on ASM.

Aims: To establish a fast and convenient microscopic method that reveals the contractile state of individual airway smooth muscle cells based on stiffness evaluation as an alternative to the tissue organ baths. To test involvement of EP4 receptor for relaxant prostaglandin E₂ (PGE₂) in surfactant mediated relaxation of ASM.

Methods: The stiffness of human airway smooth muscle cells was measured by Atomic Force Microscope NanoWizard IV AFM (JPK Instruments, Berlin, Germany). Primary human airway smooth muscle cells (passage 4-6) were exposed to methacholine chloride, PGE₂, exogenous pulmonary surfactant (BLES Biochemical, London, Ontario, Canada) and EP4 receptor antagonist ONO-AE3-208 (MilliporeSigma, Oakville, Ontario, Canada). Cells grown on a Petri dish were measured on a preheated microscopic stage (37 °C) out of CO₂ incubator. Force-distance curves were acquired by indenting the AFM cantilever into the cell until a preset force was reached. The Hertz model was applied to calculate the Young's Modulus (Pa, i.e., cell stiffness) from the curves.

Results: The cholinergic and bronchoconstrictive agonist methacholine chloride increased cell stiffness (**** $p < 0,0001$). Relaxant agent PGE₂ and exogenous pulmonary surfactant decreased cell stiffness (** $p < 0,01$; **** $p < 0,0001$). In presence of an EP4 antagonist, the surfactant did not decrease cell stiffness. Rather, the cell became more stiff after surfactant treatment ($p < 0.0001$). On the other hand, PGE₂ decreased the stiffness despite the presence of the antagonist ($p < 0.05$).

Conclusions: We conclude that measuring of cell stiffness has potential to be used as an alternative to the tissue organ bath method. AFM is a convenient and fast microscopic method that reveals contractile state of individual cells based on stiffness evaluation and may bring advances in the understanding of smooth muscle relaxation mechanism in presence of surfactant. Cell softening after surfactant and stiffening after blockade of EP4 receptor indicate that EP4 receptor may be involved in the relaxant mechanism of surfactant on ASM. Masking effect of surfactant is another potential feature of this lipid-rich substance and needs to be studied. PGE2 softening of the cells despite EP4 blockade requires further investigation with respect to alternative route via another prostanoid receptor EP2.

METABOLOMICKÉ ROZDIELY MEDZI POHLAVIAMI V EXPERIMENTÁLNOH MODELÍ ASTMY

Barosova R.¹, Baranovicova E.², Adamcakova J.¹, Mokra D.¹

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

²Martinské centrum pre biomedicínu, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave, Martin

Úvod: Bronchiálna astma je extrémne heterogénne ochorenie, pri ktorom hrá úlohu genetická predispozícia ako aj vplyv vonkajšieho prostredia. Astma sa prejavuje chronickým zápalom dýchacích ciest, ich hyperreaktivitou a zvýšenou mierou oxidačného poškodenia. Presné patomechanizmy ochorenia sú stále predmetom výskumu ako aj diagnostika, ktorá je výzvou pre lekárov z dôvodu heterogenicity ochorenia. Jedným z faktorov vplývajúcich na výskyt a priebeh asthmy je aj pohlavie. V našej štúdií sme vytvorili model alergickej astmy indukovaný ovalbumínom (OVA) na morčatách oboch pohlaví. Cieľom štúdie je porovnať metabolické profily samičiek a samcov za použitia 1NMR spektroskopie. Metodika: Dospelé morčatá kmeňa Dunkin-Hartley (350-450g) boli senzibilizované OVA nasledovne: 1.deň protokolu bol OVA (0.5 ml, 1% roztok) podaný intraperitoneálne aj subkutánne, na 3. deň protokolu bol OVA (1ml, 1% roztok) podaný intraperitoneálne. U kontrolných zvierat bola podaná aqua pro inj. zodpovedajúceho objemu. Následne na 14. a 21. deň protokolu boli modelové morčatá vystavené OVA aerosólu (1% roztok) v inhaláčnej komore po dobu 30s. Kontrolné zvieratá počas rovnakej doby inhalovali fyziologický roztok. Na 22. deň boli zvieratá usmrtené pomocou letálnych dávok anestetík. Krv bola odobratá do EDTA skúmaviek a ďalej spracovaná spôsobom zabezpečujúcim vhodnosť vzorky pre 1NMR analýzu. Výsledné dáta boli zhodnotené pomocou PCA (principal component analysis) a ROC (receiver operating characteristic curves) analytickými metódami.

Zvieratá boli rozdelené na 4 skupiny: 1. CTRL-F (samičky-kontrola, n= 7)

2. OVA-F (samičky-OVA model, n=5)

3. CTRL-M (samci-kontrola, n=6)

4. OVA-M (samci-OVA model, n=5).

Výsledky: V sére morčiat s alergickým zápalom dýchacích ciest boli zmenené hladiny endogénnych metabolitov. U samcov z modelovej skupiny zvierat bola signifikantne vyššia hladina glukózy a signifikantne nižšia hladina pyruvátu oproti samcom z kontrolnej skupiny. V sére chorých samičiek bola pozorovaná znížená hladina laktátu a naopak

znižená hladina glukózy, alanínu, 3-hydroxybutyrátu, citrátu, kreatínu, pyruvátu a sukcinátu v porovnaní so zdravými samičkami.

Okrem toho, u kontrolných skupín boli pozorované medzipohlavné rozdiely (laktát, glukóza a citrát bol znížený u samcov). Pri porovnaní chorých samcov a samíc, laktát ako jediný metabolit bol štatisticky významne znížený u samcov. Skupiny samíc (chorých aj zdravých) boli výrazne heterogénnejšie, čo sa týka nameraných hodnôt metabolitov.

Záver: Prebiehajúci alergický zápal dýchacích ciest u morčiat má vplyv na metabolomický profil v sére zvierat. V skupine chorých samcov boli pozorované znížené hladiny laktátu v porovnaní s chorými samicami, čo môže naznačovať medzipohlavné rozdiely v regulácii energetického metabolizmu u astmy.

TERAPEUTICKÁ ÚČINNOSŤ BUDEZONIDU APLIKOVANÉHO BOLUSOVO DO PLŮC POMOCOU VYSOKOFREKVENČNO-OSCILAČNEJ VENTILÁCIE U EXPERIMENTÁLNEHO MODELU ZÁVAŽNÉHO ARDS

Nemcova N.¹, Kosutova P.¹, Kolomaznik M.¹, Mateffy S.², Calkovska A.¹, Mikolka P.¹

¹Ústav fyziológie a Martinské centrum pre biomedicínu, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave, Martin

²Diagnostické centrum patológie v Prešove, Unilabs Slovakia, s.r.o., Martin

Úvod: Syndróm akútnej respiračnej tiesne (ARDS) je život ohrozujúci stav, kedy pľúca nedokážu zabezpečiť dostatočné okysličovanie organizmu. Komplexná patofyziológia ARDS zahŕňa aktiváciu a dysreguláciu viacerých prekrývajúcich sa a interagujúcich dráh poškodenia, zápalu a koagulácie situovaných hlavne v pľúcach. Poškodenie pľúc indukované aspiráciou najmä žalúdočného obsahu sa považuje za nezávislý rizikový faktor pre rozvoj ARDS. Navyše mechanická ventilácia využívaná ako podporná terapia na udržanie dostatočnej saturácie pacienta môže iniciovať ďalšie poškodenie pľúcneho tkaniva vysokým tlakom/objemom (ventilátorom indukované poškodenie pľúc, VILI). Cielená protizápalová terapia vhodne aplikovaná do pľúc môže zlepšiť vyhliadky pacientov so závažným ARDS. Cieľom štúdie je sledovať terapeutickú účinnosť glukokortikoidu budezonidu podaného bolusovo pomocou vysokofrekvenčno-oscilačnej ventilácie (HFO) na klinicky relevantnom modeli ARDS indukovanom aspiráciou HCl a VILI. HFO môže prispieť k lepšej distribúcii liečiva rovnomerne do celých pľúc a tým výraznejšie potlačiť lokálny zápal a tvorbu pľúcneho edému, čo môže prispieť k zlepšeniu pľúcnych funkcií.

Metodika: Intratracheálnym (i.t.) podaním HCl (3 ml/kg, pH 1.25) v kombinácii s VILI (VT 20 ml/kg) sme mladým Novozélandským bielym králikom indukovali závažný ARDS (podľa Berlínskej definície definovaný ako pokles pomeru parciálneho tlaku kyslíka v arteriálnej krvi k celkovej ventilačnej frakcii kyslíka, P/F <10 kPa). Následne bol bolusovo podaný budezonid i.t. (Pulmicort, 0,25 mg/kg, 1ml/kg), alebo vzduch i.t. u modelových neliečených zvierat pomocou HFO (rate 8 Hz, mean 10 mbar, ΔP 9 mbar). Kontrolnú skupinu predstavovali zdravé zvieratá s fyziologickým roztok i.t. (3 ml/kg) namiesto HCl bez VILI (každá skupina n=9). Všetky zvieratá boli konvenčne ventilované (f. 40/min, FIO₂ 1.0, Ti 40 %, VT 6 ml/kg, PEEP 5 kPa) a krvné plyny a ventilačné parametre boli sledované 4h po podaní terapie. Post mortem sa stanovil pľúcny edém, krvný obraz a hladiny cytokínov v bronchoalveolárnej laváži a histologická analýza pľúcneho tkaniva. Dáta sú uvedené ako priemer \pm SD.

Výsledky: Terapia budezonidom výrazne zlepšila pľúcne funkcie, už 30 min od aplikácie liečiva sme pozorovali štatisticky významné rozdiely v porovnaní s neliečenou skupinou a tento trend pretrvával do konca experimentu (P/F 20,6±12,5 vs. 7,2±1,8; OI 5,2±3,2 vs. 15,5±5,5; AaG 67,6±12,0 vs. 81,0±3,2; p<0,01). Budezonid znižoval hladiny zápalových cytokínov (IL-8 100,8±16,8 vs. 462,6±166,7; IL-10 19,8±1,6 vs. 61,5±35,0; TNFalfa 49,8±14,3 vs. 155,9±51,3; p<0,01), tvorbu pľúcneho edému (5,9±1,6 vs. 7,98±0,9; p<0,05) a celkové poškodenie pľúc (7,56±1,42 vs. 11,78±2,11; p=0,03).

Záver: Budezonid podaný ako bolus pomocou vysokofrekvenčno-oscilačnej ventilácie (HFO) zlepšuje pľúcne funkcie, zmierňuje zápal a znižuje edém na experimentálnom modeli závažného ARDS, pravdepodobne vďaka homogénnej distribúcii liečiva v pľúcach.

Práca podporená VEGA 1/0004/21.

TRAUMA DECREASES NEUTROPHIL INFILTRATION IN BACTERIAL LUNG INFECTION

Vlková B.¹, Macáková K.¹, Pastorek M.¹, Celec P.^{1,2}

¹Institute of Molecular Biomedicine, Faculty of Medicine, Comenius University, Bratislava

²Institute of Pathophysiology, Faculty of Medicine, Comenius University, Bratislava

Introduction: Trauma is associated with sterile inflammation. Extracellular mitochondria released during trauma are recognized by the innate immunity as bacteria. Especially elderly trauma patients are susceptible for lung infection with a bad prognosis. The underlying molecular mechanisms are unclear. In this animal experiment we aimed to describe the immune effects of trauma on lung infection using animal models.

Methods: Trauma was modeled using i.p. administration of mitochondria. Pneumonia was induced 3 hours later using i.t. administration of *S. aureus*. Mice deficient in peptidylarginine deiminase 4 (PAD4) and toll like receptor 9 (TLR9) and wild type controls of different age were used. Neutrophils count and neutrophil extracellular traps were determined using flow cytometry in the bronchoalveolar (BALF) and peritoneal lavage fluid.

Results: Neutrophil counts in the BALF were reduced by a prior trauma by 67%. This effect was even more profound in one-year old mice (lower by 84%). The deficiency in PAD4 prevented the formation of neutrophil extracellular traps, but not the neutrophil infiltration of the lung. Similarly, no differences in BALF neutrophil count were found in mice deficient in TLR9.

Conclusion: In series of experiments we were able to show that extracellular mitochondria released during trauma reduce neutrophils in the BALF in a subsequent lung infection, especially in elderly animals. We have also shown that this effect is not mediated by TLR9 and not affected by the production of extracellular traps. Other mechanisms involving formyl peptides and their receptors need to be studied in the future to potentially prevent trauma-related pneumonia and sepsis.

EXPRESSION OF CHOSEN GENES IN WOUNDS TREATED WITH TWO DIFFERENT APPROACHES

Babula P.¹, Hokynková A.², Šín P.², Štěpka P.¹, Pokorna A.³, Kratochvílová M.¹

¹Department of Physiology, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno

²Department of Burns and Plastic Surgery, University Hospital Brno and Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno

³Department of Health Sciences, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno

Pressure ulcers (PUs) are chronic wounds that represent potential lifelong complications. Pressure ulcers of a deep category (III and IV) are often indicated for surgical treatment - debridement and surgical reconstruction. Sharp surgical necrectomy is widely used in the debridement of PUs; however, the VersajetTM hydrosurgery system is becoming an increasingly popular tool for tangential excision in surgery because many advantages it has. Our work focused on the expression of selected genes, especially those associated with oxidative stress, in PUs treated in the two ways mentioned above. The following genes were chosen: NFE2L2, ACTA2, NFKB1, VEGFA, MKI67, HMOX1, HMOX2, HIF1A, and SOD2. ACTB and PSMB were used as housekeeping genes. So far, five patients have been enrolled in the study. Preliminary results suggest no significant difference in gene expression with different wound treatment approaches, despite the macroscopic difference. However, the results revealed correlations between the expression of some genes, namely HIF1A and SOD2, VEGFA and SOD2 and VEGFA and HIF1A. The results may indicate a connection between hypoxia, oxidative stress, wound healing, and angiogenesis.

Acknowledgements: This work was supported by the Ministry of Health of the Czech Republic under grant no. NU21-09-00541, "The role of oxidative stress in pressure ulcers treatment in a patient with spinal injury". All rights reserved.

MUNI/A/1343/2022.

NEURO III

MARKERY INHIBIČNEJ NEUROTRANSMISIE V MODELOCH NEUROVÝVINOVÝCH OCHORENÍ

Bakoš J.^{1,2}, Mihalj D.¹, Bukatová S.¹, Reichová A.¹, Melišková V.^{1,2}, Muscatelli F.³, Ostatníková D.2, Bačová Z.¹

¹Ústav experimentálnej endokrinológie, Biomedicínske centrum, SAV, Bratislava

²Fyziologický ústav, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava

³Institut de Neurobiologie de la Méditerranée, INSERM, Marseille

Porucha autistického spektra predstavuje skupinu neurovývinových ochorení charakterizovaných deficitmi sociálnej komunikácie a repetitívnym správaním, ktoré je možné experimentálne modelovať pomocou transgénnych myšacích modelov. V našich predchádzajúcich aj súčasných štúdiách používame myši s deficitom génov Shank3 a Magel2, o ktorých je známe, že vykazujú behaviorálne symptómy podobné autizmu. Kyselina gama-aminomaslová (GABA) je jedným z najdôležitejších inhibičných

neurotransmitterov v centrálnom nervovom systéme, pričom sa predpokladá, že tvorba neurónov produkujúcich GABA, diferenciácia ich podtypov ako aj pôsobenie GABA na postsynaptickej membráne sú dôležitými činiteľmi vo vývine mozgu. Naším dlhodobejším cieľom je objasniť potenciálne poruchy inhibičnej neurotransmisie v oblastiach mozgu relevantných pre rozvoj sociálneho správania v transgénnych myšiacich modeloch. Preukázali sme výrazné zníženie expresie GABAergických markerov (Gad65 a Gad67) u myší s deficitom Shank3 v hypotalame, hipokampe, čuchovom bulbe a frontálnom kortexe. Navyše sme v čuchovom bulbe Shank3 deficientných myší pozorovali signifikantne nižšie hladiny mRNA gefyrínu a kolibistínu, skafoldových proteínov podieľajúcich sa na tvorbe inhibičných synapsií. Znížená expresia niektorých inhibičných GABAergických markerov (Gad65, vGat) a GABA receptorových podjednotiek (Gabra2) bola zistená aj v hypotalame myší s deficitom Magel2. Predbežné imunohistochemické dáta v olfaktorickej časti mozgovej kôry naznačujú zmeny postsynaptických skafoldových proteínov u Shank3 deficientných myší. Naše najnovšie výsledky dopĺňajú teóriu o prítomnosti abnormalít GABAergických neurónov u neurovývinových ochorení, ktoré vykazujú autistické príznaky. Zníženie inhibičnej neurotransmisie v mozgu môže prispievať k výkyvom v excitačno-inhibičnej rovnováhe a k neefektívnemu rozlišovaniu sociálne relevantných podnetov. Práca bola podporená grantami APVV-21-0189, APVV-20-0114, SK-FR-19-0015 a VEGA 2/0148/21.

EFFECT OF REPEATED ROYAL JELLY ADMINISTRATION ON THE EXCITABILITY OF CENTRAL SEROTONERGIC NEURONS IN RATS

Grinchii D.¹, Krištof-Krakova T.¹, Ježová D.², Bíliková K.¹, Dremencov E.^{1,2}

¹Institute of Molecular Physiology and Genetics, Center of Biosciences, Slovak Academy of Sciences, Bratislava

²Institute of Experimental Endocrinology, Biomedical Research Center, Slovak Academy of Sciences, Bratislava

Royal jelly is a protein-rich honeybee secretion that is used in the nutrition of larvae and adult queens. It was previously reported that RJ might induce pro-cognitive, anxiolytic, and antidepressant-like effects in laboratory rats exposed to stressors (Ghorbanpour et al *Nutr Neurosci* 25:1860, 2022). Since serotonin (5-HT) plays an important role in the interplay of stress, anxiety, and depression, changes in the excitability of 5-HT neurons of the dorsal raphe nucleus (DRN) may be involved in the mechanisms of behavioural and neurochemical effects of the royal jelly. The present pilot study aimed to test this hypothesis. Adult male Wistar rats were treated with royal jelly (200 mg/kg per os, once daily) or vehicle for fourteen consecutive days. On the day 15th, one hour after last vehicle or royal jelly administration, rats were anesthetized with chloral hydrate (0.4 g/kg, intraperitoneally) and electrodes were stereotaxically lowered into their DRN. Serotonergic neurons were identified and recorded. It was found that the mean spontaneous firing rates of 5-HT neurons in the royal jelly- and vehicle-treated rats were statistically indistinguishable. Other characteristics of neuronal excitability, such as the mean number of the spontaneously active neurons per electrode descent, and the parameters of the burst activity, such as the frequency of the bursts, mean number of the action potentials or spikes per burst, percent of spikes occurring within the bursts

and percent of neurons showing burst firing, were unaffected by the royal jelly as well. Based on our contemporary results, it is not likely that the putative beneficial effects of the royal jelly are mediated via a mechanism involving the modulation of the firing of the central 5-HT neurons. This study was supported through the Joint Research Project of Japan Royal Jelly Co., Ltd., Tokyo, and Centre of Biosciences SAS.

FIBROBLAST GROWTH FACTOR TWO (FGF2) ALTERS THE EXCITABILITY OF CENTRAL SEROTONINERGIC AND DOPAMINERGIC NEURONS IN RATS: RELEVANCE FOR THE ALCOHOL USE DISORDER

Paliokha R.¹, Grinchii D.¹, Racicky M.¹, Khoury T.¹, Barak S.², Dremencov E.¹

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

²School of Psychological Sciences and the Sagol School of Neuroscience, Tel Aviv University, Tel Aviv, Israel

It was reported that fibroblast growth factor 2 (FGF2) increased alcohol consumption in rodents (Even-Chen et al J Neurosci 36:8742, 2017). FGF2 can be thus involved in alcohol use disorder, via a mechanism involving modulation of excitability of serotonergic (5-HT) neurons of the dorsal raphe nucleus (DRN) and dopaminergic neurons of the lateral ventral tegmental area (VTA) and medial substantia nigra (SN). This study aimed to test this hypothesis. Adult male Wistar rats received subcutaneous (s.c.) injection of FGF2 (80 µg/kg) or vehicle. One hour after the injection, rats were anesthetized with chloral hydrate (0.4 g/kg, intraperitoneally: i.p.) and electrodes were stereotaxically lowered via the DRN, VTA and SN. Dopaminergic and 5-HT neurons were identified and recorded. We found that the mean spontaneous firing rates of 5-HT neurons in the vehicle- and FGF2-preterated rats were statistically indistinguishable. It was however significant reduction in the percentage of the spikes occurring within the bursts. With regards to dopamine neurons, FGF2 suppressed their mean spontaneous firing rate, as well as the burst activity in both VTA and SN. Since the burst mode of firing of 5-HT and dopaminergic neurons has an enhancing effect on the neurotransmitter release from nerve terminals, stimulation of the burst firing of dopaminergic and suppression of the burst activity of 5-HT neurons might alter the corresponding neurotransmission. Summarising, FGF2 might suppress central 5-HT and stimulate dopamine neurotransmission. Taken together with our previous findings, it is possible that the FGF2 system regulates alcohol consumption via regulation of 5-HT and dopamine transmission, and it might be targeted for the future drugs designated to treat this condition.

This study was supported by following grants: APVV-20-0202, VEGA- 2/0057/22, ISF-508/20 and DFG-857/29-1.

TOPICKÉ PODANIE BDNF A JEHO INDUKTÍVNEHO FAKTORU VGF ZMIERŇUJE ZÁPALOVÉ PREJAVY EXPERIMENTÁLNEJ AUTOIMUNITNEJ UVEORETINITÍDY

Zloh M., Štofková A.

Ústav fyziologie, 3. lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Ke Karlovu 4, Praha

Mozgový neurotrofický faktor (BDNF) je jeden z najvýznamnejších neurotrofínov, ktorý má zásadnú úlohu v regulácii rastu, proliferácie a regenerácie nervových buniek, ako aj dôležitý vplyv na moduláciu imunitnej odpovede. VGF je neurotrofínmi indukovaný faktor, ktorý významne podporuje neurotrofickú a imunomodulačnú úlohu neurotrofínov. Cieľom tejto práce bolo zistiť, či topické podanie BDNF alebo od VGF odvodeného peptidu TLQP-21 spôsobí zlepšenie klinických príznakov experimentálnej autoimunitnej uveoretinitídy (EAU) u C57BL/6J myší. EAU bola indukovaná aktívnou imunizáciou pomocou subkutánneho podania retinálneho antigénu IRBP1-20, emulzifikovaného v kompletnom Freudovom adjuvante do koreňa chvostu s následným intravenóznym podaním toxínu z *Bordetella pertussis*. Od 8. dňa (latentná fáza bez klinických príznakov) až po 14. deň (klinická fáza EAU) imunizácie sme myšiam podávali vo forme očných kvapiek BDNF (2 µg denne) alebo TLQP-21 (15 µg denne) do ipsilaterálneho oka. Rozpúšťadla daných látok (fyziologický roztok s obsahom 0,5 % karboxymetylcelulózy a 1 % dimethylsulfoxidu) bolo podané do kontralaterálneho oka. Naše výsledky ukázali, že podanie BDNF malo významný vplyv na potlačenie zápalu sietnice a klinických príznakov EAU. Pomocou RT-qPCR analýzy sme zistili, že podanie BDNF významne znížilo génovú expresiu niektorých prozápalových cytokínov a chemokínov, akými sú IL-6 alebo CCL2. Navyše analýzou western blot sme zaznamenali, že po podaní BDNF došlo k signifikantnému zvýšeniu expresie VGF a zníženiu expresie markeru reaktívnej gliózy GFAP v sietnici, čo svedčí o zníženej prozápalovej aktivite gliových buniek sietnice. Podobné účinky boli pozorované aj po podaní TLQP-21, ktoré spôsobilo signifikantné zníženie génovej expresie viacerých prozápalových mediátorov, vrátane IL-6, IL-1β, CXCL1, CXCL10 a GFAP. Analýzou prietokovej cytometrie sme zistili signifikantný pokles počtu patogénnych CD4+, CD8+ a CD11b+ imunitných buniek v sietnici po podaní BDNF aj TLQP-21. Tieto účinky boli potvrdené aj analýzou klinického skóre EAU, kde sme pozorovali významne znížené množstvo imunitných infiltrátov v parenchýme sietnice, papile zrakového nervu a redukciu vaskulitídy v porovnaní s kontrolnou skupinou. Z daných výsledkov vyplýva, že BDNF prostredníctvom svojich imunomodulačných vlastností výrazne potlačil zápalové procesy u myší s EAU. Vzhľadom k tomu, že BDNF indukoval expresiu VGF v sietnici a že po podaní TLQP-21 boli pozorované podobné výsledky ako po podaní BDNF, je pravdepodobné, že BDNF môže pôsobiť na zápal sietnice nie len priamo, ale aj prostredníctvom inductívneho faktoru VGF. Tieto zistenia by mohli slúžiť ako podklad pre vývoj nových terapeutických prístupov v liečbe autoimunitných a neuroinflamačných ochorení sietnice.

Grantová podpora: GAUK 378421, 260533/SVV/2022, COOPERATIO Neurosciences, COOPERATIO Diagnostics and Basic Sciences

INTERNACIONALIZÁCIA AKO INOVATÍVNY PRVOK VO VÝUČBE MEDICÍNY

Babinská K., Lakatošová S., Ostatníková D.

Univerzita Komenského v Bratislave, Lekárska fakulta, Fyziologický ústav, Bratislava

Úvod: Internacionalizácia vzdelávania je proces zavádzania medzinárodného, medzikultúrneho alebo globálneho rozmeru do obsahu a materiálov, ako aj do metód vzdelávania s cieľom vychovať odborníkov s perspektívou uplatnenia na globalizovanom pracovnom trhu. Zatiaľ čo internacionalizácia vo vysokoškolskom vzdelávaní existuje už desaťročia, v oblasti medicínskeho vzdelávania sa jej stále venuje iba obmedzený priestor.

V rámci inovácií výučby na Fyziologickom ústave sme uskutočnili pilotný projekt internacionalizácie predmetu Základy fyziologickej a klinickej výživy. Predmet je zameraný na výživu ako významný faktor v prevencii a liečbe rôznych zdravotných porúch. V rámci kurzu nadobúdajú študenti vedomosti a zručnosti potrebné k analýze výživy pacienta a zostaveniu nutričných odporúčaní pre jednotlivca v zdraví a chorobe. Cieľom inovácie bola zmena obsahovej i metodickej stránky kurzu v zmysle internacionalizácie.

Súbor a metódy: Inováciu sme zaviedli v skupine študujúcej v slovenskom jazyku (15 domácich a 3 zahraniční študenti), ako aj v skupine študujúcej v anglickom jazyku (21 zahraničných študentov).

Vo výučbe kurzu sme i v minulosti využívali aktívne, na študentov orientované metódy, avšak ako nový prvok sme zaviedli rovesnícke vzdelávanie (peer learning), v rámci ktorého sa študenti učili spoločne a navzájom od seba. Nutričné nároky a zásady správnej výživy sú všeobecne aplikovateľné v rôznych populáciách, ale stravovacie návyky a problémy súvisiace s výživou vykazujú rozdiely. Ako inováciu sme do obsahu kurzu včlenili aj medzinárodné, geografické a kultúrne aspekty výživy.

Zber dát sa uskutočnil formou dotazníka v úvode a na záver kurzu. Študenti volili odpoveď na päťstupňovej Likertovej škále alebo si vybrali z alternatívy áno /nie. Participujúci študenti podpísali informovaný súhlas s účasťou vo výskume.

Výsledky a diskusia: Po absolvovaní kurzu sme pozorovali pozitívne zmeny v povedomí študentov medicíny o kultúrnych a geografických faktoroch, ktoré môžu ovplyvniť výživu a zdravotný stav jedinca. Študenti priaznivo hodnotili prínos rovesníckeho učenia, ktoré podporilo ich porozumenie medzinárodných aspektov výživy. Veľká časť študentov uviedla, že aktívne učenie formou skupinovej diskusie považuje za prínosné. Internacionalizácia bola efektívnejšia v medzinárodnej skupine študentov v menšej miere v skupine domácich študentov s malým počtom zahraničných účastníkov. Výsledky nášho projektu naznačujú, že rôznorodosť študijných skupín a predchádzajúce skúsenosti s participáciou v multikultúrnej skupine sa javia ako faktor, ktorý môže podporovať internacionalizáciu. Poukazujú na skutočnosť, že väčšie rezervy sú v internacionalizácii domácich študentov.

Skúsenosti, ktoré sme nadobudli, budú nápomocné pri ďalšej modifikácii kurzu z hľadiska jeho internacionalizácie a využívania rovesníckeho vzdelávania. Vnímame ich ako prínos aj pre rozvoj iných kurzov poskytovaných na Lekárskej fakulte.

VZŤAH NEUROGENÉZY A VARIABILITY SPEVU SPEVAVCOV

Niederová-Kubíková L., Mertušová J., Hoďová V., Bilčík B., Pätoprstá L.
Centrum biovied SAV, Ústav biochémie a genetiky živočíchov, Dúbravská cesta 9,
84005 Bratislava

Úvod: Neurogenéza v dospelom mozgu je spájaná so sprostredkovaním behaviorálnej variability. Učenie a pridávanie nových elementov do piesne kanárika divého (*Serinus canaria*) sa odohráva v čase nárastu počtu nových neurónov v kôrovej oblasti HVC (skratka je názov), ktorá je nevyhnutná pre spev. Pestúnka japonská (*Lonchura striata* var. *domestica*) spieva piesne s variabilnejšou sekvenciou slabík než zebrička červenozobá (*Taeniopygia guttata*) a má tiež vyššiu bunkovú proliferáciu aj vyšší počet nových neurónov včlenených do oblastí sprostredkujúcich spev, HVC a striatálnej oblasti Area X. Vyšší počet nových neurónov u pestúanky je navyše spojený s vyššou variabilitou v sekvencii spievaných slabík. Cieľom tejto štúdie bolo zistiť, či je táto súvislosť medzi variabilitou poradia slabík piesne a neurogenézou platná aj všeobecne pri porovnaní viacerých druhov.

Metodika: Okrem dospelých samcov pestúanky japonskej (n=5) a zebričky červenozobej (n=6) sme použili ďalšie druhy čeľade astrildovité – ryžovník sivý (*Lonchura oryzivora*, n=6), amandava bodkovaná (*Amandava amandava*, n=4), astrilda vlnkovaná (*Estrilda astrild*, n=3) a batilda trstinová (*Neochmia ruficauda*, n=1). Kvantifikovali sme variabilitu poradia slabík v ich piesni pomocou troch parametrov – linearity, konzistentnosti a stereotypie. Každému samcovi sme podali dva tymidínové analógy pre označenie syntézy DNA, 5-bromo-2-deoxyuridín (BrdU) a po mesiaci 5-etinyl-2-deoxyuridín (EdU). Po 2h od podania EdU sme zvieratá usmrtili a imunohistochemicky sme zafarbili novovznikajúce bunky vo ventrikulárnej zóne (VZ, EdU+) a taktiež migrujúce alebo včlenené neuróny do vokálnych oblastí Area X a HVC (BrdU+/NeuN+, DCX+).

Výsledky: Všetky druhy spievali vysoko konzistentne, ale líšili sa v linearite a stereotypii. Pri sledovaní súvislosti medzi variabilitou poradia slabík piesne a počtom novovzniknutých buniek vo VZ pri zahrnutí všetkých jedincov sme zistili, že nižšia linearita a stereotypia (vyššia variabilita) bola spojená s vyšším počtom novovzniknutých buniek. Podobne vyššia variabilita poradia slabík piesne bola spojená s vyšším počtom nových neurónov včlenených do vokálnych oblastí HVC a Area X. Okrem toho sme takýto vzťah variability s tvorbou nových buniek potvrdili aj vrámci druhu u ryžovníka a vzťah variability s inkorporáciou do HVC a Area X u ryžovníka a pestúanky.

Záver: Tieto výsledky naznačujú, že nové neuróny vznikajúce v dospelosti môžu umožňovať variabilitu v poradí spievaných slabík.

Táto práca bola podporená grantami APVV-20-0344 a VEGA 2/0068/20.

MOZKOVÝ PERFUZNÍ TLAK – VÝSLEDKY DLOUHODOBÉHO KONTINUÁLNÍHO MONITOROVÁNÍ STŘEDNÍHO ARTERIÁLNÍHO TLAKU, INTRAKRANIÁLNÍHO TLAKU A VIDEOZÁZNAMU U VOLNĚ POHYBLIVÝCH LABORATORNÍCH POTKANŮ

*Kozler P., Marešová D., Pokorný J.
Fyziologický ústav 1. LF UK, Praha*

Cílem předkládané studie je pokračování v translačním výzkumu perfuzního tlaku mozku (CPP – cerebral perfusion pressure), který hraje zásadní roli pro normální mozkové funkce, protože zajišťuje kontinuální a adekvátní přísun energetických zdrojů. CPP je vypočítaná hodnota odvozená z rozdílu mezi středním arteriálním tlakem (MAP – mean arterial pressure) a intrakraniálním tlakem (ICP – intracranial pressure). Stanovit CPP v preklinických i klinických podmínkách lze na základě invazivně monitorovaných MAP a ICP pouze krátkodobě u pacientů v bezvědomí nebo u anestetizovaných pokusných zvířat. V experimentálních modelech však krátkodobé monitorování nepřináší realistický obraz vztahu mezi ICP a MAP za fyziologických a experimentálně upravených podmínek. Tuto nevýhodu řeší technologie telemetrie, při které implantované transistory a tlaková čidla umožňují dlouhodobé monitorování MAP a ICP u volně pohyblivých zvířat. Od roku 2014 jsou publikovány výsledky separátního dlouhodobého monitorování buďto ICP nebo MAP. V rámci 95. FD konaných v roce 2019 v Praze a následně publikačně jsme prezentovali studii se simultánním monitorováním obou tlaků telemetrickou technologií, a to jak u intaktních laboratorních potkanů, tak u zvířat s indukovaným edémem mozku. Šlo o vůbec první hodnoty CPP získané simultánním monitorováním ICP a MAP po dobu 72 hodin u volně pohyblivých laboratorních potkanů.

V současné studii jsme změnili vnitřní prostředí mozku u experimentálních skupinách indukci obou typů edému mozku (cytotoxického – celulárního a vazogenního – extracelulárního), použili jsme neuroprotektci methylprednisolonem (MP) a kontinuální simultánní monitorování obou tlaků telemetrickou technologií jsme prodloužili na 7 dnů při kontinuální video observaci potkanů v jejich přirozeném prostředí a v reálném čase. Soubor tvořilo celkem 48 laboratorních potkanů (kmen Wistar, mužské pohlaví, hmotnost 400-410g) rozdělených do šesti skupin po osmi zvířatech: (1) skupina kontrolní, intaktní zvířata – C, (2) skupina s indukovaným celulárním edémem – Wlip, (3) skupina s indukovaným extracelulárním edémem – MAic, (4) skupina s neuroprotektcí MP u extracelulárního edému, i.p. aplikace – MA+MPip, (5) skupina s neuroprotektcí MP u extracelulárního edému, i.c. aplikace – MA+MPic, (6) skupina s neuroprotektcí MP u celulárního edému – WI+MPip. Indukce celulárního edému mozku metodou intoxikace vodou a extracelulárního edému mozku metodou osmotického otevření HEB proběhla standardním způsobem. Aplikace MP: MA+MPip – 100mg MP aplikováno jednorázově i.p. 10 minut po osmotickém otevření HEB manitolem, MA+MPic – 50mg MP aplikováno jednorázově do vnitřní karotidy 10 minut po osmotickém otevření HEB manitolem, WI+MPip – 100mg MP aplikováno i.p. frakcionovaně ve třech dílčích dávkách spolu s aplikací DW + desmopressinu. Ke kontinuálnímu monitorování MAP a ICP byl použit telemetrický systém DSI™ (Data Sciences International), implantace komponent proběhla v inhalační anestezii isofluranem (Florante ®, AbbVie Ltd.).

uložen do podkožní kapsy na zádech v úrovni střední části hrudní páteře, tlakové čidlo pro registraci ICP bylo umístěné subdurálně z malé trepanace pravé frontální kosti 2 mm před bregma, tlakové čidlo pro registraci MAP bylo zavedené skrze arteriotomii v arteria carotis communis k lební bazi. Po celou dobu monitorování (7 dnů) byla zvířata pod trvalou kamerovou kontrolou (systém Amcrest) s možností záznamu a zpětné analýzy.

Výsledky studie potvrzují známou skutečnost, že dosud neexistuje shoda na tom, jaká je optimální hodnota CPP a to proto, že existence jediného ideálního CPP pro patologické stavy různé etiologie je nepravděpodobná, a dále proto, že průtok krve mozkiem vyplývající z jakéhokoli daného MAP se individuálně liší v důsledku řady proměnných faktorů. Arbitrární hodnoty „normálního“ CPP (rozmezí mezi 70-90 mmHg) převažoval ve skupině kontrolní a ve skupinách s neuroprotekcí MP. Ve skupinách s indukovaným edémem jsme registrovali i CPP hodnoty pod 50mmHg, při kterých již mozkové funkce mohou být ovlivněné ischemií. Videozáznam však neprokázal významné změny chování při kritickém snížení CPP.

NEFARMAKOLOGICKÉ METODY V LÉČBĚ BOLESTI

Rokyta R., Fricová J.

3.LF UK, Ústav fyziologie, Praha, Česká republika, 1.LF UK Centrum bolesti, Praha

Souhrn: V článku jsou uvedeny současné používané metody neurostimulací při léčení chronické bolesti, vždy jsou uvedeny metodické zásady a základní rozdělení na metody invazivní a neinvazivní. Je rozebrána patofyziologie neurostimulačních metody a zásadní indikace. Samozřejmě jsou zmíněny i komplikace těchto metod. Je zdůrazněno jejich použití u farmakorezistentních bolestí a jejich pozitivní i negativní efekt. Nakonec jsou zdůrazněny jednotlivé indikace, zejména u neurologických a psychiatrických onemocnění. Závěrem jsou zmíněny i chirurgické metody, které zbyly z předchozí rozsáhlé chirurgické terapie, která byla víceméně kompletně nahrazena terapií neuromodulační.

Klíčová slova: Neuromodulace, neurostimulace invazivní a neinvazivní, indikace neuromodulací

Summary: The present methods of neurostimulation in the treatment of chronic pain are presented, methodological principles and basic division into invasive and non-invasive methods are always mentioned. The pathophysiology of neurostimulatory methods and essential indications are discussed. Of course, the complications of these methods are also mentioned. They are used in pharmacoresistant pain and their positive and negative effects are emphasized. Finally, individual indications are highlighted, especially in neurological and psychiatric disorders. Finally, the surgical methods remaining from previous extensive surgical therapy, which were more or less completely replaced by neuromodulation therapy, are also mentioned.

Key words: Neuromodulation, neurostimulation invasive and noninvasive, indication of neuromodulation.

AGE-RELATED BEHAVIORAL CHARACTERISTICS OF WISTAR RATS

Sušienková P., Feješ A., Lichá K., Szabó J., Borbélyová V., Šebeková K.
*Institute of Molecular Biomedicine, Faculty of Medicine, Comenius University,
Bratislava*

Introduction: Aging is comprehensively described in humans and is associated with lower activity, higher anxiety, and cognitive decline. It affects brain physiologic activity related to memory and emotion processing sex-dependently. However, experiments dealing with age- and sex-dependent changes in the behavior of laboratory rats throughout their lifespan are lacking. This study, therefore, aims to investigate age- and sex-related changes in the behavior of female and male Wistar rats in different developmental periods.

Methods: Female and male Wistar rats were tested in the Open Field Test (locomotor activity), Elevated Plus Maze Test (anxiety-like behavior), and Novel Object Recognition Test (exploratory activity and memory) in developmental periods: adolescence (n = 20; age: 1 and 2 months), adulthood (n = 26; age: 5 and 10 months), middle-age (n = 18; age: 15 months) and old-age (n = 26; age: 18 and 25 months).

Results: Adolescent rats showed higher locomotor activity than the other three groups (1.5-2-fold; $p < 0.001$) in the Open Field Test. Adult rats moved 1.2-fold more compared to old-aged rats ($p < 0.05$). Female rats showed higher locomotor activity than male rats in all age-related groups (by 37%; $p < 0.01$). The locomotion in open arms (Elevated Plus Maze) was higher in adult rats than in middle-aged and old-aged rats (by 52-80%; $p < 0.05$). The old-aged rats entered the open arms 1.6-2-fold less compared to adolescent and adult rats ($p < 0.05$) and spent more time in the open arms (by 43-80%; $p < 0.01$). Adolescent and adult male rats spent 2.2-fold less time in the open arms than old-aged male rats ($p < 0.01$). Old-aged rats showed 1.9 times lower exploratory activity compared to adolescents ($p < 0.05$), and 2.5-fold lower in comparison with adult and middle-aged rats ($p < 0.05$). Adult female rats showed 3-3.2-fold higher exploration compared to old-aged males and females. Recognition memory did not differ significantly between the groups. Body weight had no significant effect on movement in any behavioral tests.

Discussion: This study describes behavioral differences throughout the lifespan of Wistar rats. In parallel with previous research, adolescent and adult rats moved more than older rats. Age-related changes were detected in behavior, while body weight did not affect any type of the tested behavior. In contrast with the previous findings, lower anxiety-like behavior combined with a lack of exploration might indicate less motivation to move in aged rats. Further research of the ethograms and neuronal changes related to ageing should be examined in laboratory rodents.

This study was supported by grants from the Grant Agency of the Ministry of Education, Science, Research and Sport of the Slovak Republic VEGA 1/0635/20, KEGA 045UK-4/2020, and Slovak Agency for Research and Development No: APVV-21-0355.

LONG-TERM CAFETERIA DIET CHANGES THE RAT BRAIN

Szabó J., Feješ A., Bačiak L., Celec P., Šebeková K.

Institute of Molecular Biomedicine, Faculty of Medicine, Comenius University, Bratislava

Introduction: Previous studies have shown that metabolic syndrome (MetS) and obesity are associated with cognitive decline and dementia. The involvement of regional reduction of white and grey matter integrity has been suggested, but not experimentally proven. In this study voxel-based morphometry of selected regions of interest (ROI) was used to determine brain volumetric changes in a male Wistar rat model of cafeteria diet-induced MetS and obesity.

Methods: Male Wistar rats were fed with standard chow (CTRL; n=6) or with cafeteria diet (CAF; n=6) for 6 months. Rats underwent oral glucose tolerance test, morphometric and blood pressure measurement, blood sampling and in vivo brain MRI volumetry at the end of the study. MetS score was calculated from the Z-scores of systolic blood pressure, insulin sensitivity index (QUICKI), waist/length ratio and concentrations of high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) and triacylglycerols (TG). The T2-weighted images were co-registered to the Waxholm Space Atlas of rat brain, and ROI-based volumetric evaluation was carried out.

Results: CAF rats displayed 40% higher bodyweight, 23% larger waist/length ratio, 16% higher QUICKI and 4% higher blood pressure, reflected in 2.5-fold higher MetS Z-score, as well as 9% greater total brain volume, 19% greater orbitofrontal cortex volume and 22% smaller corpus callosum volume ($p<0.05$), compared to the CTRL rats. Total brain volume was negatively associated with QUICKI ($r=-0.58$) and positively associated with blood pressure and MetS score ($r=0.7$; $r=0.6$), while the volume of the orbitofrontal cortex was negatively associated with QUICKI ($r=0.7$) and positively associated with MetS score ($r=0.58$). Finally, the volume of corpus callosum was negatively associated with both waist/length ratio and TG ($r=-0.6$; $r=0.62$; all $p<0.05$).

Discussion: Obesity-associated MetS was successfully induced in CAF rats, and they exhibited changes in total brain volume, as well as local white and grey matter volumetric changes. We further provide evidence that in cafeteria diet-induced model of obesity-associated MetS, increase in insulin resistance seems to be associated with enlarged grey matter volume, while central obesity and dyslipidemia seem to be associated with atrophy of the white matter. Similar observations were reported in association studies with human patients; thus, further research should more closely focus on the causative direction of the MetS-related parameters in brain morphology.

This study was supported by a grant from the Slovak Agency for Research and Development No: APVV-21-0355.

EXTRACELLULAR DNA DECREASES AFTER TREATMENT OF RHEUMATOID ARTHRITIS

Vlková B.¹, Macáková K.¹, Šteňová E.², Celec P.^{1,3}

¹Institute of Molecular Biomedicine, Faculty of Medicine, Comenius University, Bratislava

²1st Department of Internal Medicine, University Hospital, Comenius University, Bratislava

³Institute of Pathophysiology, Faculty of Medicine, Comenius University, Bratislava

Introduction: Extracellular DNA (ecDNA) is a promising biomarker, but also a damage-associated molecular pattern. Antibodies against DNA are detected in patients with autoimmune diseases, but their role in their pathogenesis is unclear. The aim of our study was to analyze the effects of biological disease-modifying antirheumatic drugs (bDMARDs) on ecDNA in patients with rheumatoid arthritis (RA).

Methods: In three cohorts of patients sampled before and after 1, 3, 6 or 12 months of treatment with bDMARDs samples of blood were taken. EcDNA was isolated from plasma and quantified using fluorometry and real time PCR. Nucleosomes and myeloperoxidase were assessed using ELISA.

Results: Clinical symptoms and inflammatory parameters improved considerably. In all three cohorts ecDNA decreased significantly in treatment responders – the vast majority of patients. Total, nuclear and mitochondrial DNA decreased after bDMARDs. Nucleosomes and myeloperoxidase were not affected by the treatment.

Conclusion: The decrease in inflammation after bDMARDs treatment of RA is associated with a decrease in ecDNA. The lack of association with nucleosomes or myeloperoxidase as components of neutrophil extracellular traps suggest that the changes in ecDNA affect other forms of ecDNA such free unbound ecDNA. This indicates that enzymatic cleavage of ecDNA via nucleases could represent a suitable treatment or preventive approach in RA.

METABOLIC EFFECTS OF BIOLOGIC ANTI-INFLAMMATORY TREATMENT IN RHEUMATOID ARTHRITIS

Macáková K.¹, Suchoňová M.¹, Mlynáriková V.², Vlková B.¹, Šteňová E.³, Celec P.^{1,4}

¹Institute of Molecular Biomedicine, Faculty of Medicine, Comenius University, Bratislava

²National Institute of Rheumatic Diseases, Piešťany

³1st Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, University Hospital, Bratislava

Introduction: Rheumatoid arthritis (RA) is associated with high cardiovascular mortality. It is not clear whether the metabolic consequences of chronic inflammation are involved. Biological disease modifying anti-rheumatic drugs (bDMARDs) are highly efficient in the treatment of inflammation in RA. In this study we aimed to describe the metabolic effects of bDMARDs treatment in RA patients.

Methods: The clinical status of 21 patients included in the final analysis was assessed using DAS28 and CRP. Plasma samples were collected before treatment with bDMARDs as well as after three and six months of treatment. Markers of lipid and glucose metabolism as well as renal biomarkers were assessed using standard biochemistry. ELISA was used for the quantification of insulin, leptin and adiponectin.

Results: Although fasting insulin and the calculated homeostatic model assessment for insulin resistance decreased on average by 28% at the end of the study, most of the analyzed parameters did not show any statistically or clinically significant dynamics. The exception being total bilirubin and cholesterol that increased by 62% and 15%, respectively after six months of treatment with bDMARDs.

Conclusion: Treatment with bDMARDs did not induce major metabolic changes despite strong anti-inflammatory effects reducing clinical signs and symptoms of RA. Further studies will show whether longer observations are needed for the detection of metabolic effects. Additional research is needed to understand the observed effect on bilirubin as an important endogenous antioxidant.

NEUTROPHIL PHENOTYPE AND BEHAVIOR VARY BASED ON THE ISOLATION METHOD

Bečka E., Janko J., Pastorek M.

Institute of Molecular Biomedicine, Faculty of Medicine, Comenius University, Bratislava

Background: Neutrophils are the most abundant innate immune cells and are the first line of defense against invading pathogens. While originally thought to be a homogenous population, recent research has revealed that neutrophils can change their phenotype as they age, migrate to a different type of tissue, or encounter a specific pathogen. For practical purposes, neutrophil research is often dependent on their isolation, which can affect neutrophil behavior and obscure the plasticity that is present *in vivo*. Thus, if we want to improve our understanding of neutrophil biology, we need to elucidate the effect of different isolation methods on their behavior and response.

Aim: We aim to characterize the effect that different isolation methods have on neutrophil phenotype in the presence or absence of bacterial stimuli.

Methods: Neutrophils were isolated with a commercial immuno-separation kit and gradient centrifugation, with whole blood serving as a phenotype control. For the characterization of phenotype, neutrophils were incubated with antibodies against desired markers (CD16, CD11b, CD49d, CD62P, and CD62L). To test neutrophil response, cells were incubated with *E. Coli* lysate and analyzed for histone H3 citrullination.

Results: Using the standard gradient isolation method led to incomplete separation of neutrophils, where more aged (CD49^{high}) neutrophils were present in a normally discarded layer. In contrast, the immuno-separation method preserved both the mature and the aged population. However, both methods pre-activated the neutrophils which was detected by an increase in CD11b surface expression. Incubation of neutrophils with *E. coli* also led to increased expression of CD62P and decreased expression of CD62L, which play a role in adherence and neutrophil rolling, and bone marrow homing. Finally, when investigating the response of different neutrophil phenotypes to the presence of a pathogen, aged (CD49^{high}) neutrophils showed increased neutrophil extracellular

trap formation.

Conclusion: While aged neutrophils are more prone to the induction of NETs, this population can be lost during gradient isolation. We, therefore, conclude that using immune-separation methods is superior, however, caution should be held, as every separation method finally results in neutrophil pre-activation and when possible, whole blood should be used instead.

This project was supported by APVV-21-0378 and VEGA 1/0716/20.

MNOŽSTVO CIRKULUJÚCICH MIKROČASTÍC V PLAZME ZDRAVÝCH JEDINCOV JE ZÁVISLÉ OD VEKU A POHLAVIA

Janko J.¹, Celec P.^{1,2,3,4}, Pastorek M.¹

¹Ústav molekulárnej biomedicíny, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave

²Ústav fyziológie, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave

³Ústav patologickej fyziológie, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave

⁴Katedra molekulárnej biológie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave

Úvod: Cirkulujúce mikročastice vznikajú pri rozpade buniek alebo exocytózou a od exozómov sa odlišujú veľkosťou nad 100 nm a nie vždy prítomnou dvojitou lipidovou membránou. V literatúre je popísaná asociácia mikročastíc s prebiehajúcimi fyziologickými zmenami, ktoré môžu indikovať rozvíjajúce sa patológie a teda slúžiť ako diagnostické markery. Doteraz boli identifikované zvýšené koncentrácie mikročastíc obsahujúcich DNA a mitochondrie pri zápalových a autoimunitných ochoreniach ako napr. systémový lupus erythematosus, preeklampsia, reumatoidná artritída a rôznych obličkových chorôb. Voľná cirkulujúca DNA a mitochondrie však tieto patológie nielen indikujú, ale sami stimulujú imunitný systém a môžu tak zohrávať úlohu v ich etiológii ako aj prispievať k ich progresii.

Cieľ: Cieľom tejto štúdie bolo popísať prirodzenú variabilitu množstva a veľkosti mikročastíc v plazme u zdravých jedincov oboch pohlaví v závislosti od veku a u žien od prítomnosti gravidity, ktorá by mohla slúžiť na zavedenie referenčných fyziologických hodnôt.

Metódy: Mikročastice prítomné v plazme asociované s DNA alebo mitochondriami boli identifikované pomocou farbenia 200nM SYTOX™ Green Nucleic Acid Stain (S7020, Invitrogen, USA) alebo 50nM MitoTracker™ Green (M7514, Invitrogen, USA). Na analýzu ich počtu, veľkostnej distribúcie a intenzity fluorescence bol použitý prietokový cytometer Beckman Coulter DXFlex (Beckman Coulter, CA, USA). Dáta boli štatisticky spracované pomocou Prism8 (GraphPad Software, USA).

Výsledky: U všetkých subjektov sme pozorovali silnú koreláciu medzi počtom DNA asociovaných častíc a voľných mitochondrií, avšak zaznamenali sme distinktné veľkostné profily, ktorých distribúcia nie je závislá od veku alebo pohlavia. Dospelí mali oproti deťom viac cirkulujúcich mitochondrií a DNA častíc, pričom v starobe bol ich počet signifikantne nižší oproti obojm skupinám. U žien v dospelosti a starobe sme zistili menej cirkulujúcich mitochondrií a DNA asociovaných častíc ako u mužov, pričom v gravidite tento počet ešte výrazne klesol. Zároveň sme u žien zaznamenali vyššiu nukleázovú aktivitu, ktorá bola významne vyššia u žien v gravidite.

Záver: Napriek vysokej prirodzenej variabilite v počte DNA asociovaných častíc

a mitochondrií sme zaznamenali pohlavné rozdiely, ktoré sa objavili až v dospelosti a narástli s prítomnosťou gravidity, avšak klesli v starobe. Tento fenomén poukazuje na vplyv pohlavných hormónov a jeho ďalšie skúmanie by mohlo pomôcť objasniť úlohu voľnej DNA v etiopatogenéze autoimunitných chorôb, v ktorých incidencii sú známe výrazné pohlavné rozdiely.

Táto práca bola podporená grantom Ministerstva školstva, vedy, výskumu a športu Slovenskej republiky (VEGA 1/0674/21) a Agentúrou na podporu výskumu a vývoja (APVV-21-0378).

MULTIFUNKČNOSŤ HMYZÍCH VITELLOGENINŮ: JEJICH ÚLOHA V OBRANNÝCH REAKCÍCH

Kodrík D.^{1,2}, Jurčáková D.³, Kainzová K.^{1,2}, Hlávková D.^{1,2}, Čapková Frydrychová R.^{1,2}, Skoková Habušťová O.¹, Štěrbová H.¹

¹Entomologický ústav, BC AVČR v.v.i., České Budějovice

²Přírodovědecká fakulta, Jihočeská univerzita, České Budějovice

³Ústav patologickej fyziológie, Jesseniova lekárska fakulta, Univerzita Komenského, Martin

Hmyzí vitellogeniny (Vg) jsou glyko-lipo-fosfoproteiny všeobecně známé jako prekurzory žloutkových proteinů. Jsou to vysokomolekulární látky (150-650 kDa) produkované hlavně v tukovém tělese samic, kde je jejich syntéza hormonálně řízena. V poslední době se však ukazuje, že se jedná také o biologicky aktivní proteiny, které hrají úlohu v řadě aspektů hmyzí biologie. Sem patří obrana proti entomopatogenům a toxinům, obrana vůči oxidačnímu stresu, podpora imunitních reakcí, hojení ran nebo kostový polymorfismus u sociálního hmyzu. To vysvětluje skutečnost, že Vg byly prokázány i u samců řady hmyzích druhů. V naší studii jsme zjistili, že infekce samců plošnice *Pyrrhocoris apterus* hádátkem *Steinernema carpocapsae* vyvolá signifikantní nárůst exprese Vg genů i zvýšení hladiny Vg v těle. Na první pohled překvapivě byl účinek této infekce u samic opačný – jak u exprese, tak u celkové hladiny docházelo k inhibici Vg. Pravděpodobné vysvětlení vychází z toho, že hladina vitellogeninů je v normální situaci u samic mnohem vyšší než u samců, a samice tak ve stresu vyvolaném infekcí šetří energii a snižují hladinu vitellogeninů pouze na úroveň, která je nezbytná na zvládnutí infekce. Podobný výsledek byl zaznamenán také u mandelinky *Leptinotarsa decemlineata*, kde zmíněný patogen také vyvolal zvýšení Vg exprese u samců a její snížení u samic. Naproti tomu úloha Vg vůči intoxikaci včelím jedem není zcela jasná. Zjistili jsme, že aplikace včelího jedu do těla švába *Periplaneta americana* vyvolá pokles hladiny Vg u samců i samic. Podobný pokles hladiny Vg byl pozorován také v hemolymfě i tukovém tělese včelích dělnic i trubců po ošetření včelím jedem. Není zcela jasné, zda se jedná o nespecifický účinek nebo je to důsledek spotřeby Vg při obranných reakcích. Studie o sledování vlastností Vg zahrnovala také výzkum účinku tohoto proteinu na nocireceptory u myši. Výsledky ukázaly, že Vg aktivuje v kůži u myši selektivní podskupinu nervových vláken, které zprostředkují svědění tzv. pruriceptory a intradermální injekce Vg vyvolává u myši obrannou reakci – škrabání. Je zřejmé, že existuje korelace mezi Vg a stresem vyvolaným infekcí nebo intoxikací těla, mechanismus účinku však není zcela jasný a je předmětem dalšího výzkumu.

Studie byla podpořena grantem QK1910270 z Národní agentury pro zemědělský výzkum a projektem RVO 60077344 z Entomologického ústavu BC AVČR.

CHRONODISRUPTÍVNY ÚČINOK SVETELNEJ KONTAMINÁCIE V NOCI NA AKÚTNU ZÁPALOVÚ ODPOVEĎ POTKANA

Okuliarova M., Jerigova V., Zeman M.

Katedra živočíšnej fyziológie a etológie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava

Úvod: Viaceré ukazovatele imunitných funkcií vykazujú denný rytmus, čo umožňuje časové zosúladenie obranných mechanizmov s environmentálnym cyklom svetla a tmy a tiež s vnútornými fyziologickými procesmi. Vystavenie umelému svetlu v noci (ALAN) môže narušiť túto synchronizáciu a oslabiť cirkadiánnu kontrolu zápalovej odpovede, čo môže následne limitovať obranyschopnosť organizmu. Cieľom našej práce bolo overiť túto hypotézu na modeli akútneho zápalu, ktorý bol indukovaný buď počas aktívnej, alebo pasívnej fázy dňa.

Metodika: Použili sme dospelé samce Wistar potkanov, ktoré boli chované na kontrolnom režime svetlo/tma (LD 12:12h, ZT0=začiatok svetla) alebo ALAN režime so slabým osvetlením v tmavej fáze (L~150 lux; D~2 lux). Po dvoch týždňoch expozície sme buď na začiatku pasívnej (ZT2), alebo začiatku aktívnej fázy dňa (ZT14) indukovali akútny zápal i.p. injekciou lipopolysacharidu (LPS). Vybrané parametre vrodenej imunity sme hodnotili 3 a 24 h od aplikácie, pričom v priebehu týždňa sme monitorovali anorektické správanie a hmotnosť tela.

Výsledky: Po LPS stimulácii v ZT2 potkany vystavené ALAN vykazovali menšiu stratu apetítu, ako aj menší úbytok hmotnosti tela v porovnaní s potkanmi na LD režime. Plazmatické hladiny kortikosterónu a prozápalového tumor nekrotického faktora- α sa zvýšili v reakcii na LPS, no ALAN eliminoval od fázy dňa závislé rozdiely v odpovedi. Rovnakú stratu dennej variability v zápalovej odpovedi sme zaznamenali na ALAN režime v periférnej neutrofilii a v znížení počtu krvných monocytov a T buniek. Potkany vystavené ALAN mali špecificky počas svetelnej fázy dňa vyšší počet neutrofilov v obličke a vyššiu renálnu expresiu makrofágového markera Cd68 v porovnaní s kontrolami, čo poukazuje na narušený denný rytmus prestupu bielych krviniek medzi krvou a tkanivami. Úlohu narušenej cirkadiánnej regulácie sme analyzovali aj na úrovni periférnych oscilátorov v obličke. Hodinové gény Bmal1, Per2 a Revrb α vykazovali výraznú časovú závislosť v akútnej reakcii na LPS u LD potkanov, pričom ALAN eliminoval rezponzivnosť REVERB α , ktorý je dôležitý transkripčný regulátor viacerých imunitných génov.

Záver: Naše výsledky demonštrujú možný mechanizmus vysvetľujúci súvis medzi svetelným znečistením a negatívnymi dôsledkami na zdravie. Ukázali sme, že vystavenie potkanov svetlu počas noci viedlo k chronodisrupcii akútnej zápalovej odpovede, na ktorej môže participovať narušená denná variabilita v kinetike bielych krviniek a cirkadiánnej kontrole periférnych oscilátorov.

Práca bola podporená grantom APVV-21-0223, APVV-21-0164 a VEGA 1/0565/22.

JE PŘÍJEM VITAMÍNŮ ČESKÝCH TĚHOTNÝCH ŽEN DOSTATEČNÝ?

Kovařík M.^{1,2}, Kacerovský M.², Hronek M.^{1,2}

¹Farmaceutická fakulta Univerzity Karlovy, Hradec Králové

²Fakultní nemocnice Hradec Králové, Hradec Králové

Úvod: Ideálně vyvážená strava obsahující potřebné množství vitamínů je jedním z faktorů, který může přispět ke snížení rizika komplikací v průběhu gravidity a správnému vývoji plodu. Cílem této studie tedy bylo stanovit průměrný příjem vitamínů v různých fázích gravidity v populaci zdravých českých žen v porovnání s doporučenou denní dávkou (DDD). Dalším cílem bylo stanovení podílu žen nespňujících hodnotu DDD.

Metodika: Do longitudinální studie bylo zařazeno 98 zdravých gravidních žen (primipar), které byly vyšetřeny v různých fázích gravidity (2., 3. a pozdní 3. trimestr). V každém ze sledovaných období byl stanoven příjem vitamínů s využitím týdenního nutričního záznamu a vyhodnocen pomocí software Nutridan. Výživa byla hodnocena jak bez, tak včetně započítání suplementace. V každém období byla také stanovena hmotnost a množství netučné hmoty (FFM) pomocí duální bioimpedanční analýzy (TanitaRD-953) a klidový energetický výdej (REE) pomocí indirektní kalorimetrie (Vmax).

Výsledky: Příjem vitamínů potravou se v různých fázích gravidity statisticky významně nelišil. Po přepočtu na hmotnost nebo FFM však u vitamínů E, B1, B3, B6 a B9 došlo k poklesu hodnot v třetím trimestru ve srovnání s druhým (o 10–20 %). Suplementace významně zvýšila příjem všech vitamínů, s výjimkou vitamínu A, ve všech sledovaných fázích gravidity. Při započítání suplementace byl v období druhého trimestru nejvyšší příjem vitamínů E, B1, B3, B6 a B9. Po přepočtu na hmotnost byl v druhém trimestru nejvyšší příjem u všech vitamínů, s výjimkou vitamínů A a D. Medián příjmu vitamínů A, D, E, B9 a B12 z potravy byl nižší než DDD ve všech fázích gravidity, se suplementací pouze u vitamínů A a B9. Více než poloviční podíl žen nespňl individuální hodnotu DDD z potravy u vitamínů B9 (100 %), D (86–93 %), E (77–86 %), B12 (63–67 %), A (59–68 %) a B6 (58–61 %), i přes suplementaci zůstaly deficitní u většiny žen vitamíny B9 (64–78 %), A (59–68 %) a D (48–56 %). Korelační analýza prokázala pozitivní asociaci mezi příjmem většiny vitamínů z potravy a REE, zejména ve 2. trimestru.

Závěr: Velká část těhotných bez suplementace nedosáhne doporučených hodnot příjmu mnohých vitamínů, ani suplementace nepokryje deficity, zejména vitamínů B9, A a D. Byla prokázána souvislost mezi REE a příjmem některých vitamínů. Tato studie tedy potvrdila důležitost sledování příjmu nutrientů u těhotných žen.

Práce byla podpořena MH CZ–DRO (UHHK, 00179906) a PROGRES Q42.

TLMENÉ SVETLO V NOCI VÝZNAMNE NARÚŠA DENNÉ RYTMY METABOLIZMU

Rumanová V.S., Okuliarová M., Zeman M.

Katedra živočíšnej fyziológie a etológie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava

Prírodné striedanie svetla a tmy je dôležitým synchronizačným podnetom pre správne fungovanie cirkadiálneho systému a časovanie fyziologických procesov organizmu. Narušenie svetelného režimu spôsobuje desynchronizáciu biologických rytmov, ktorá je spájaná s kardiometabolickými ochoreniami. Používaním nadmerného pouličného osvetlenia a reklamných pútačov sa neustále zvyšuje intenzita osvetlenia počas noci. Ukazuje sa, že už nízke intenzity umelého svetla v noci (ALAN) ovplyvňujú metabolizmus, pričom mechanizmy za týmito zmenami dodnes neboli objasnené.

Cieľom nášho experimentu bolo sledovať efekty tlmeného osvetlenia v noci na energetický metabolizmus a expresiu hodinových a metabolických génov u potkana. Dospelé samce Wistar potkanov boli chované buď v podmienkach štandardného svetelného režimu 12 hodín svetlo a 12 hodín tma (CTRL) alebo boli vystavené ALAN (~2 lx) počas celej tmavej fázy (ALAN). Energetický metabolizmus a lokomočná aktivita boli merané v metabolických klietkach (TSE Systems). Po dvoch týždňoch sme odobrali vzorky krvi, pečene a tukového tkaniva v 4-hodinových intervaloch počas 24 hodín.

U potkanov vystavených ALAN sme pozorovali zvýšenú lokomočnú aktivitu a príjem potravy v prvej polovici pasívnej fázy a ich zníženie počas aktívnej fázy v porovnaní s kontrolnou skupinou. Tieto zmeny sa odzrkadlili aj v respiračnom koeficiente, ktorý indikoval zvýšenú oxidáciu sacharidov počas pasívnej fázy ALAN potkanov. Metabolity v plazme (glukóza, triacylglyceroly, cholesterol) stratili svoj denný rytmus a hladiny cholesterolu sa zvýšili po expozícii ALAN v porovnaní s kontrolou. Ďalej sme sa zamerali na expresiu hodinových génov v pečeni a tukovom tkanive, ktoré si udržali svoj robustný rytmus s miernymi zmenami v akrofáze a amplitúde aj po expozícii ALAN. Výraznejšie bola ovplyvnená expresia metabolických senzorov, ktoré sú riadené hodinami aj metabolickým stavom organizmu a zároveň spätne ovplyvňujú expresiu hodinových génov a proteínov. V pečeni došlo buď k fázovému predbiehaniu rytmu (Ppara, Pgc1a, Nampt) alebo k strate rytmu (Sirt1, Lxra) v porovnaní s CTRL skupinou. V bielom tukovom tkanive sa stali arytmiickými len Ppara a Sirt1, čo poukazuje na rozdielny vplyv ALAN na obe metabolické tkanivá. Glukóza vstupuje do pečene cez GLUT2, ktorého génová expresia fázovo predbiehala a mRNA Foxo1 bola arytmiická v porovnaní s CTRL skupinou. Zmeny v metabolizme glukózy a zvýšený príjem potravy počas dňa prispeli k zníženiu amplitúdy rytmu glykogénu v pečeni. Expresia génov lipidového metabolizmu buď fázovo predbiehala, stala sa arytmiickou alebo dokonca v niektorých prípadoch získala rytmus po expozícii ALAN.

Naše výsledky demonštrujú, že tlmené osvetlenie počas noci narúša denné rytmy cirkulujúcich metabolitov a expresie génov kódujúcich metabolické senzory a komponenty katabolických a anabolických dráh metabolizmu. Pozorované zmeny sú pravdepodobne podmienené narušenými rytmami pohybovej aktivity, príjmu potravy a celkového energetického metabolizmu, pričom rytmy periférnych oscilátorov boli zmenené len mierne po dvojtyždňovej expozícii ALAN.

Projekt bol podporený APVV-21-0223 a VEGA 1/0565/22.

CHRONODISRUPTION DURING EARLY DEVELOPMENTAL PERIODS AFFECTS METABOLISM AND CARDIOVASCULAR SYSTEM FUNCTIONING LATER IN ADULTHOOD IN A SEX-DEPENDENT MANNER

Semenovykh K., Honzlová P., Semenovykh D., Dočkal T., Sládek M., Kuneš J., Maletínská L., Greiner P., Sumová A.

Laboratory of Biological Rhythms, Institute of Physiology, Czech Academy of Sciences, Prague

Background and aim: Obesity and hypertension are major health problems in the structure of modern diseases currently facing human society. For a long time, cardiovascular disease (CVD) has been the leading cause of death. It is known that much of acute cardiovascular events occur in the early morning hours and that both heart rate and blood pressure display a rhythmic circadian pattern. Circadian rhythmicity is an intrinsic feature of every eukaryotic cell. In mammals, the circadian system is composed of a central oscillator placed in the suprachiasmatic nuclei of the hypothalamus (SCN) and peripheral oscillators in other cells of the body. The circadian system is a general regulatory mechanism that provides temporal adaptation of the entire organism to the level of lighting in the environment. Desynchronization between central and peripheral oscillators caused by working on shifts, excessive usage of artificial light at night, or traveling across time zones could trigger and exacerbate obesity, T2 diabetes mellitus, and CVDs. Experimentally, chronodisruption can be induced by exposure to constant light (LL). Few studies have addressed the extent of adverse effects of chronodisruption at early developmental stages (EDS), but mostly in males. We investigated the effects of LL during EDS in melatonin-deficient mice to examine its impact on their health later in adulthood in both sexes.

Goals of the experiment:

1. Estimate effects of the LL during EDS on the selected markers related to metabolism and CVS functioning. Find the most susceptible EDS where the possibility of an appearance of adverse effects after LL is highest.

2. Compare sensitivity to the chronodisruption during EDS in males and females.

Experimental model: In our experiment, we used PER2::LUC transgenic mouse. It is a standard model for research in the field of chronobiology. In these mice, PER2 protein is fused with the luciferase, the enzyme which is able to cleave the luciferin. After the addition of luciferin to the medium with the tissue explants or cell culture of PER2::LUC mice, it induces bioluminescence in the presence of luciferase. Since the PER2 protein is expressed rhythmically, the bioluminescence exhibits circadian rhythm that can be monitored in explanted tissues or cell cultures.

Design of the experiment: Male and female PER2::LUC mice were left intact as controls or exposed to LL during the fetal (group 1), postnatal (group 2), or pubertal (group 3) stages. Impact of LL on metabolism, clock, and cardiovascular system (CVS) was studied in adult mice. Additionally, group 1 was examined at embryonic day (E) 17.5.

Results: Our data show that LL during EDS impairs metabolic and cardiovascular status in adulthood in a sex-dependent manner. Males from group 1 had higher blood pressure and heart rate. Males from groups 1 and 2 exhibited worsened glucose tolerance and tended to gain more weight due to higher food consumption. Interestingly, pups of both sexes from group 1 already had higher body weight at E17.5.

Conclusions: Exposure to LL during EDS causes long-lasting impairment of metabolism and CV system functioning in animals, in spite of they do not produce melatonin. The obtained results emphasize the need to reduce the use of artificial light during the subjective night for pregnant women and parents with children, as well as for neonatal intensive care units.

HRV U POTKANA

Švorc P., Grešová S., Petrášová D.
Ústav fyziologie, Lékárska fakulta UPJŠ, Košice

The cardiovascular system is primarily controlled by the autonomic nervous system, and any changes in the activity of the sympathetic or parasympathetic divisions also have an impact on myocardial activity. Heart rate variability (HRV) and baroreflex sensitivity are two readily available metrics used to assess heart rate control by the autonomic nervous system. HRV can provide information about neural (parasympathetic, sympathetic, reflex) and humoral (hormones, thermoregulation) control of myocardial activity. Considering the significant variability of published HRV data, the present study focused primarily on possible problems that may contribute to this wide variability in in vivo experiments involving rats. HRV data from 496 studies retrieved from a literature search of the Web of Science database using the keywords "HRV in rat" were assessed. HRV parameters that were reported as baseline or control values were summed and the means were calculated.

VYSOKÝ „FITNESS AGE“ JAKO RIZIKOVÝ FAKTOR MORBIDITY A PŘEDČASNÉ MORTALITY

Novák J.¹, Štork M.²

¹Ústav sportovní medicíny a aktivního zdraví LF UK v Plzni

²Katedra elektroniky a informačních technologií FEL ZČU v Plzni

Úvod: Dle statistiky českých kardiologů máme v ČR 2 912 942 kardiaků, což je ve srovnání s dobou před 10 lety zhruba o 364 000 více. Zatímco úmrtní na akutní infarkt ubývá, zvyšují se naopak počty případů srdečního selhání. V r. 2021 trpělo srdečním selháním 122 068 lidí, v roce 2011 to bylo jen 96 668 pacientů. Včasná diagnostika hrozičího srdečního selhání je pro osud těchto nemocných rozhodující. Zatímco podle NYHA klasifikace nemají kardiáci, zařazení do skupiny 1 (s kardiorepirační kapacitou 7-9 METs) žádné vážnější subjektivní příznaky, s narůstajícím poklesem funkční kapacity problémy narůstají až do fáze „frailty“, kdy se nemocný stává nesamostatným.

Metodika: Úroveň kardiorepirační kapacity, posuzovaná podle maximální spotřeby kyslíku VO₂max je významným faktorem, který souvisí s rizikem metabolického syndromu, ICHS a dalšími poruchami zdravotního stavu. Z rozsáhlé databáze všech osob vyšetřených na Ústavu tělovýchovného lékařství FN UK v Plzni a na Oddělení tělovýchovného lékařství Fakultní nemocnice v Plzni v letech 1994 až 2015 byly vybrány protokoly těch vyšetřených, které poskytovaly potřebné údaje. Celkově bylo do této studie zařazeno 2901 vyšetření (2095 vyšetření u mužské populace, 806 vyšetření

u ženské populace) ve věkovém rozmezí 7 až 95 let. Soubory byly rozděleny do 5 skupin podle charakteru pohybové aktivity: skupina A – vytrvalci, skupina B – hráči týmových sportů, skupina C – ostatní závodní sportovci, skupina D – rekreační sportovci, skupina E – osoby se zdravotními problémy, ale nikoliv PN. Hodnoty VO₂max byly přepočítány na METmax a ty pak porovnány s NYHA kritérii.

Výsledky: Hodnoty METmax dosahovaly podle očekávání nejvyšší úrovně u skupin A mužů i žen. Uvádíme průměrné hodnoty METmax – muži: A - 17.2±3.0, B - 16,6±2.3, C - 14.5±2.8, D - 11.7±2.1, E - 10,2±2.1. Ženy: A - 14.3±2.2, B - 13,6±2.0, C - 11.9±1.8, D - 10,1±1.9, E - 8.5±1.5. Zatímco u skupin A až D byly případy, které bychom již klasifikovali jako NYHA 1 (METmax nižší než 9), zcela ojedinělé (10 případů z 2777, tj. 0,3%), u skupiny E to bylo u mužů 20% a u žen 52% vyšetřených.

Diskuse a závěry: Úroveň kardiorepirační kapacity, posuzovaná podle maximální spotřeby kyslíku VO₂max příp. podle METmax je významným faktorem, který souvisí s rizikem metabolického syndromu, ICHS a dalších rizikových faktorů (1, 2, 3). Kardioprotektivní význam vysoké kardiorepirační kapacity, vyjádřené úrovní VO₂max, prokázala řada experimentálních studií i rozsáhlých metaanalýz. Vysoký tzv. „fitness age“ ve srovnání s kalendářním věkem je cenným biomarkerem, upozorňujícím na kritický pokles funkční kapacity a hrozící riziko srdečního selhání. Na toto riziko objektivně upozorní výsledky zátěžového testu, porovnané s normativy zdatnosti pro českou populaci.

Literatura: 1. Earnest CP et al. Maximal Estimated Cardiorespiratory Fitness, Cardiometabolic Risk Factors, and Metabolic Syndrome in the Aerobics Center Longitudinal Study. *Mayo Clinic Proc* 2013;88(3):259-270. 2. Kodama S et al. Cardiorespiratory Fitness as a Quantitative Predictor of All-Cause Mortality and Cardiovascular Events in Healthy Men and Women. A Meta-analysis. *JAMA* 2009;301(19): 2024-2035. 3. Reynolds K et al. Metabolic Syndrome and Risk of Cardiovascular Disease: A Meta-Analysis. *Amer J Med* 2006; 119(10):812-819.

VYUŽITÍ TELEMEDICÍNY V PRENATÁLNÍ PÉČI

*Heřman H., Tefr O., Trojanová K., Faridová A.
Ústav pro péči o matku a dítě, Praha*

Státy EU patřily mezi země nejvíce postižené pandemií COVID-19. Bylo proto nutné přizpůsobit péči o těhotné ženy, aby se minimalizovalo riziko přenosu infekce. S rostoucím počtem nakažených zdravotníků, nedostatkem ochranných pracovních pomůcek a využívání lékárn v rámci jednotek COVID, nastala potřeba standardní péči reorganizovat. V řadě zemí EU byla předporodní péče reorganizována velmi brzy po vypuknutí pandemie, kdy po počáteční osobní návštěvě v 10.-12. týden těhotenství, byly další kontroly prováděny distančně. Fyzický kontakt lékaře s těhotnou ženou byl pouze v případě problémů po předchozí tele-konzultaci. Přístup k poporodní péči o novorozence a matky v období šestinedělí byl v jednotlivých zemích individuální, ale obecně všechny státy upřednostňovaly distanční formu s cílem omezit kontakt a rizika pro matku i novorozence. Cílem projektu bylo ověřit, že využití telemedicíny v prenatální péči je možné, a to především při pravidelných vyšetřeních nízkorizikových těhotných žen s fyziologickým těhotenstvím, zejména ve třetím trimestru.

V rámci celkového monitorování je využíván přístroj na měření krevního tlaku (Omron),

ktorý zaznamenáva naměřené hodnoty krevního tlaku přímo do aplikace. Podobně se používá i CTG - PregnaBit - přenosný přístroj se snadným ovládním, který si těhotná žena přiloží do oblasti pupku a pomocí aplikace v telefonu zajistí CTG záznam (srdeční frekvence plodu) - lze snímat ozvy plodu během 20-minutového záznamu, který je po zadání zvoleného hesla v mobilní aplikaci (Meddi-baby) odeslán jejímu gynekologovi ke kontrole. Vzorek moči pacientky je diagnostikován pomocí standardních dg proužků a po velmi jednoduchém vyhodnocení schématu pacientka zadá výsledek do aplikace, podobně jako svou hmotnost. Pokud je kontrola na dálku bezproblémová a všechny naměřené hodnoty jsou fyziologické, je další schůzka naplánována jako osobní nebo distanční dle doporučení. Lékař vytvoří závěrečnou zprávu o návštěvě a vše doplní do dokumentace, včetně záznamu CTG. Distanční zdravotní péče je v projektu poskytována prostřednictvím řešení vyvinutého lékaři a společností MEDDI hub a.s. Tato platforma, vyvinutá v České republice, umožňuje lékařům/porodním asistentkám a těhotným pacientkám bezpečně komunikovat v reálném čase.

Tato inovace přináší několik výhod jak pro pacientku, tak pro poskytovatele zdravotní péče. Kromě minimalizace kontaktu s infekčními/rizikovými osobami a absolutní volnosti pohybu bez ohrožení kvality péče o těhotné ženy, jsou zde také pozitiva ekonomická jak pro zdravotnická zařízení tak pro těhotné. Předpokládáme, že po ukotvení tohoto způsobu péče, bude systém využíván i pro rizikové pacientky – včetně zajištění domácí péče pro pacientky, které by jinak musely být hospitalizované.

METABO I

ÚLOHA CHRONODISRUPTIE V ETIOPATOGENÉZE METABOLICKÉHO SYNDRÓMU

Zeman M.¹, Rumanová V.S.¹, Molčan L.¹, Šutovská H.¹, Šoltýsová A.², Jerigová V.¹, Stebelová K.¹, Okuliarová M.¹

¹Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra živočíšnej fyziológie a etológie, Slovensko

²Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra molekulárnej biológie, Slovensko

Civilizačné ochorenia, vrátane metabolického syndrómu, sú multifaktoriálne podmienené a na ich etiopatogenézu sa podieľajú viaceré modifikovateľné a nedomodifikovateľné faktory životného štýlu. Identifikácia nových modifikovateľných faktorov môže prispieť k zníženiu výskytu civilizačných ochorení. Jedným z takýchto faktorov môže byť chronodisrupcia, teda nesúlad medzi vnútornými rytmami v ľudskej tele a prirodzenými cyklami v prostredí. Chronodisrupcia je známa v súvislosti s prácou na zmeny a jet-lag syndrómom a naše výsledky ukazujú narušenie cirkadiálnych rytmov aj vplyvom vystavenia sa svetlu počas noci. Expozícia umelému svetlu v noci (ALAN) je jednou z najvýraznejších zmien v našom prostredí, no jej dôsledky nie sú zatiaľ dostatočne preskúmané. Cieľom našich modelových experimentov bolo objasnenie mechanizmov, ako ALAN môže ovplyvniť metabolické a kardiovaskulárne parametre pri narušení metabolickej homeostázy v podmienkach geneticky podmienenej hypertenzie alebo pri experimentálne indukovanom metabolickom syndróme podávaním 10% fruktózy vo vode. Použili sme dospelé samce normotenzných a spontánne

hypertenzných potkanov (SHR), ktoré boli vystavené osvetleniu s intenzitou 2 luxy počas celej noci pri svetelnom režime 12L:12D, pričom počas dňa bolo osvetlenie na úrovni 150 luxov. Sledovali sme morfometrické a metabolické parametre, vrátane hladiny hormónov v plazme. Rytmické zmeny tlaku krvi, srdcovej frekvencie, bazálnej teploty a pohybovej aktivity sme monitorovali telemetrickým systémom DataSciences, Ltd. V metabolicky aktívnych tkanivách sme hodnotili génovú a proteínovú expresiu enzýmov a transkripčných faktorov základných metabolických dráh. Naše výsledky odhalili zvýšenú depozíciu triacylglycerolov v pečeni potkanov vystavených ALAN a tento efekt bol asociovaný s elimináciou rytmu plazmatických hladín metabolitov a hormónov melatonínu, testosterónu a vazopresínu, ako aj s fázovo predbiehajúcim rytmom kortikosterónu. Svetelná kontaminácia viedla k prehĺbeniu inzulínovej insenzitivity v srdci SHR potkanov a vzostupu tlaku krvi, pričom amplitúda rytmu kardiovaskulárnych parametrov bola potlačená. U normotenzných potkanov sme pozorovali komplexné zmeny v regulácii metabolizmu lipidov v pečeni, ale tlak krvi a srdcová frekvencia sa nezvýšila. Výsledky získané po podávaní fruktózy ukázali supresívny účinok na nočné hladiny melatonínu v plazme a tiež komplexné zmeny metabolických a hormonálnych parametrov, ktoré neboli amplifikované expozíciou ALAN.

Práca bola podporená grantom APVV-17-0178, APVV-21-0223 a APVV-21-0164.

KOMBINOVANÁ TERAPIA NA NANOČASTICE VIAZANÉHO SIMVASTATÍNU A COQ10 UP-REGULUJE DRÁHU AKT-ENOS PRI EXPERIMENTÁLNO M ETABOLICKOM SYNDRÓME

Pecháňová O., Saman E., Barta A., Cebová M.

Centrum experimentálnej medicíny Slovenskej akadémie vied, Bratislava

Úvod: Statíny, okrem schopnosti znížiť LDL-cholesterol, majú pleiotropné, benefičné účinky na kardiovaskulárny systém. Dlhodobá liečba statínmi však môže byť spojená so závažnými vedľajšími účinkami a to i z dôvodu zníženia hladiny koenzýmu Q10, ktoré túto liečbu sprevádza. Zároveň, mnohé statíny majú nízku biodostupnosť.

Ciel: S cieľom znížiť dávku statínov a zvýšiť ich biodostupnosť sme pripravili a charakterizovali simvastatín s postupným uvoľňovaním, ktorý bol viazaný na polymérne nanočastice (S-N). Rovnako sme pripravili koenzým Q10 (CoQ10-N) a sledovali ich účinky na lipidový profil a rovnováhu oxidu dusnatého a reaktívnych foriem kyslíka (ROS) v srdci a aorte u dospelých, obéznych potkanov, samcov kmeňa Zucker.

Metódy: Potkany boli rozdelené na kontrolnú skupinu, skupinu ktoréj boli podávané čisté nanočastice a skupiny, ktorým bol podávaný S-N, alebo CoQ10-N, alebo ich kombinácia. Po 6 týždňoch podávania uvedených látok sme stanovili lipidový profil v plazme a koncentráciu konjugovaných diénov v pečeni. Aktivitu syntázy oxidu dusnatého (NOS), expresiu proteínu Akt, endotelovej NOS (eNOS), fosforylovanej eNOS (p-eNOS), NADPH oxidázy a nukleárneho faktora kappaB (NF-kappaB) sme stanovili v srdci a aorte.

Výsledky: Podávanie S-N, CoQ10-N a rovnako ich kombinácie znížilo plazmatické hladiny LDL, ale iba kombinácia S-N a CoQ10-N dokázala zvýšiť aktivitu NOS a proteínovú expresiu Akt, eNOS a p-eNOS v srdci aj v aorte. Je zaujímavé, že expresia NADPH oxidázy v srdci a NF-kappaB proteínu v aorte bola znížená u všetkých skupín, vrátane skupiny, ktorej boli podávané čisté polymérne nanočastice.

Záver: Záverom môžeme konštatovať, že iba kombinovaná terapia na nanočastice viazaného simvastatínu a CoQ10 zvýšila aktivitu NOS a up-regulovala dráhu Akt-eNOS u obéznych potkanov kmeňa Zucker, čo môže predstavovať sľubný nástroj pre liečbu kardiometabolických ochorení.

VPLYV PATOLOGICKÝCH STAVOV SPOJENÝCH S ROZVOJOM DIABETU A ÚČINKAMI DOXORUBICÍNU NA MATRIXOVÉ METALOPROTEINÁZY

Boťanská B., Ferenczyová K., Barteková M., Barančík M.

Ústav pre výskum srdca Centra experimentálnej medicíny SAV, v. v. i., Bratislava

Úvod: Matrixové metaloproteinázy (MMP) majú významnú úlohu v procesoch remodelácie extracelulárnej matrix. Ich funkcia je kontrolovaná prostredníctvom tkanivových inhibítorov MMP (TIMP). Nerovnováha medzi MMP a TIMP môže viesť k rozvoju množstva patologických stavov. Bol tiež dokázaný súvis medzi zmenami v MMP a oxidačným stresom. Jednou z možností, ako zmierňovať negatívny vplyv patologických stavov spojených so zvýšenou produkciou radikálov na MMP je aplikácia látok s antioxidantnými účinkami. Medzi takéto látky patrí flavonoid kvercetin (Q), u ktorého boli dokázané viaceré pozitívne účinky (antioxidačný, protizápalový).

Cieľ: Cieľom práce bolo sledovať zapojenie MMP do procesov spojených s rozvojom patologických stavov vyvolaných diabetom alebo podávaním doxorubicínu (Dox). Sledovali sme tiež, akým spôsobom ovplyvňuje zmeny v MMP, ktoré boli vyvolané rozvojom diabetu a aplikáciou Dox, podávanie Q.

Materiál a metódy: Vzorky z tkaniva ľavej komory (ĽK) srdca boli získané z dvoch experimentálnych modelov. Analyzované boli vzorky Wistar potkanov, a to: i) za kontrolných podmienok (aplikácia fyziologického roztoku); ii) po aplikácii Dox (3 týždne, kumulatívna dávka 15 mg/kg hmotnosti); iii) po aplikácii Q (20 mg/kg hmotnosti, 6 týždňov); iv) po súčasnej aplikácii Dox aj Q. Zmeny v MMP sme analyzovali tiež v ĽK srdca obéznych a chudých ZDF potkanov: i) chudé potkany s aplikáciou vehikula; ii) chudé potkany s aplikáciou Q (20 mg/kg hmotnosti, 6 týždňov); iii) obézne diabetické potkany s aplikáciou vehikula; iv) obézne diabetické potkany s aplikáciou Q. Hladiny MMP sme detegovali pomocou Western blot analýzy, aktivitu MMP-2 s využitím želatínovej zymografie.

Výsledky: Pri sledovaní zmien v hladinách 72 kDa a 63 kDa formy MMP-2 sme zistili, že diabetes v ĽK srdca významne zvyšoval hladiny oboch sledovaných foriem MMP-2. Podávanie Q malo významný vplyv na zmeny vyvolané diabetom iba v prípade 63 kDa MMP-2, kedy došlo k ďalšiemu zvyšovaniu hladín tohto proteínu. Pri ovplyvňovaní Wistar potkanov Dox a Q došlo k významným zmenám iba pri 72 kDa MMP-2, a to po podávaní Dox. Q nemenil významným spôsobom hladiny ani jednej formy MMP-2, či už za kontrolných podmienok alebo po podávaní Dox. Pri analýze aktivít MMP patriacich do skupiny želatináz sme zistili, že u obéznych diabetických potkanov boli výrazne upregulované aktivity 72 kDa MMP-2. Aplikácia Q neovplyvnila tieto zmeny v aktivácii MMP-2 vyvolané diabetom. Matrixová metaloproteináza-28 (MMP-28) je najnovším identifikovaným členom rodiny MMP. Naše výsledky ukazujú významné zníženie proteínových hladín tohto enzýmu v ĽK srdca u obéznych ZDF potkanov. Aplikácia Q významne nemenila hladiny MMP-28 u kontrolných zvierat a tiež neovplyvňovala

účinky vyvolané diabetom. Zaujímavým bolo zistenie, že u Wistar potkanov ovplyvňovaných Dox a/alebo Q boli zmeny na úrovni MMP-28 značne rozdielne. Dox nemal žiadny významný vplyv na zmeny v hladinách tohto enzýmu. Významné zmeny sme zaznamenali iba po podávaní Q. Pri súčasnom podávaní Q s Dox ku zmenám nedochádzalo. Zdá sa, že v účinkoch Q u Wistar potkanov by mohla mať významnú úlohu ďalšia forma MMP, a to MMP-12. V prípade tejto MMP je zaujímavé, že zmeny na úrovni jej proteínových hladín boli totožné so zmenami v proteínových hladinách MMP-28.

Záver: Získané výsledky poukazujú na zapojenie MMP-2 do patologických stavov spojených s rozvojom diabetu a tiež po podávaní Dox. Na rozdiel od MMP-2, v prípade MMP-28 sa javí byť rozdielna úloha tohto enzýmu pri patologickom stave spojenom s rozvojom diabetu a pri negatívnych účinkoch vyvolaných pôsobením Dox. Aplikácia Q významne ovplyvňovala zmeny v proteínových hladinách MMP-28 a MMP-12. V sledovaných experimentálnych podmienkach sme nepozorovali žiadny významný vzťah medzi pozorovanými zmenami v MMP a zmenami v hladinách ich tkanivových inhibítorov. Získané výsledky môžu pomôcť k lepšiemu pochopeniu úlohy rozdielnych foriem MMP v rôznych patologických situáciách. Pre objasnenie presného mechanizmu ich pôsobenia sú však potrebné ďalšie štúdie.

Podporené grantmi APVV-18-0548, APVV-21-0194 a VEGA-SR 2/0179/21.

VYUŽITÍ MAGNETICKE REZONANCE KE KVANTIFIKACI TUKU A STEATÓZY VE SLINIVCE BŘÍŠNÍ U PACIENTŮ PO BARIATRICKÉ OPERACI

Bužga M., Blaho M., Horká V., Macháčková J., Holéczy P.

Centrum nutričního výzkumu a obezity, lékařská fakulta, Ostravská univerzita

Obezita a metabolický syndrom jsou nejčastějšími etiologickými faktory vedoucími k ukládání lipidů v parenchymatózních orgánech. Současné poznatky naznačují, že NAFLD je významně spojena se zvýšeným rizikem metabolického syndromu MS a jeho složek. Pankreatická steatóza (PS) má jak metabolické důsledky, tak lokální účinky na samotný pankreas. Magnetická rezonance (MRI) je nejspolehlivější neinvazivní metodou pro diagnostiku PS. V naší retrospektivní studii jsme zkoumali vliv metabolického syndromu a přítomnost pankreatické steatózy u vysoce obézních pacientů. Zhruba jsme se zaměřili na rozdíly u jedinců s pankreatickou steatózou a bez pankreatické steatózy.

Metody: změny antropometrických a základních biochemických hodnot a výskyt MS byly hodnoceny u 34 pacientů s diagnózou MS s obezitou, kteří podstoupili bariatrický zákrok. Po zákroku pacienti podstoupili MRI s manuální 3D segmentací vytvořením masky za účelem stanovení obsahu tuku v pankreatu (PFC). Na základě přehledu literatury byla hranice mezi normálním a abnormálně vysokým obsahem lipidů (steatóza) stanovena na 10,4 %. Porovnávali jsme rozdíly v PFC a přítomnost PS u jedinců s MS a bez MS a porovnali pacienty s PS a bez PS. Zároveň jsme porovnávali viscerální tukovou tkáň (VAT) pomocí duální rentgenové absorpcimetrie (DXA) a to před a po provedeném operačním výkonu.

Výsledky: nezjistili jsme žádný významný rozdíl v PFC mezi skupinami s RS a bez RS ani ve výskytu PS. U pacientů s PS a bez PS byly zjištěny významné rozdíly zejména

v indexu tělesné hmotnosti (BMI), hmotnosti tuku, VAT, vybraných adipocytokinech a lipidovém spektru bez rozdílu v hladinách glykémie.

Závěry. Bariatrcko metabolické výkony lze považovat za účinné při léčbě obezity, MS a některých jeho složek. Měření PFC pomocí MRI neprokázalo žádný rozdíl ve vztahu k metabolickému syndromu. Nicméně, pacienti, kteří redukovali své BMI < 30, netrpěli PS a měli nižší celkovou hmotnost tuku a VAT. Hladina glykémie neměla vliv na přítomnost pankreatické steatózy. Zdá se, že snížení celkové tělesné tukové tkáně vede nejen ke změnám metabolických funkcí, ale mohlo by mít vliv i na steatózu slinivky břišní.

VLIV BARIATRICKO-METABOLICKÉ CHIRURGIE NA SLOŽKY METABOLICKÉHO SYNDROMU A ZMĚNY TUKOVÉ TKÁNĚ U OSOB S OBEZITOU III. STUPNĚ

Horká V., Bužga M., Macháčková J.

Ústav fyziologie a patofyziologie LF, Ostravská univerzita, Ostrava

Bariatrcká chirurgie je účinnou léčbou obezity s metabolickým efektem. Proto se v posledních letech používá nový název bariatrcko-metabolická chirurgie.

Cílem studie bylo sledovat změny složek metabolického syndromu podle definice ATP III a rizikové faktory tukové tkáně.

Výzkumný vzorek tvořilo 45 probandů (30 žen, 15 mužů), kteří podstoupili jeden bariatrcký výkon-parciální jejuno-ileální diverzi (n=17), sleeve resekci (n=14) nebo laparoskopickou plikaci žaludku (n=14). U probandů byly sledovány především složky matabolického syndromu, jako je ranní glykémie, TAG, HDL cholesterol, obvod pasu, a krevní tlak. Dále byla sledována tuková hmota přístrojem DXA (Dual Energy X-Ray Absorcinometry). Parametry byly sledovány po dobu jednoho roku (vstupní měření, dále pak 3., 6. a 12. měsíc po zákroku).

Retrospektivní studie ukazuje, že u sledovaného vzorku bariatrckých pacientů se jedná o efektivní způsob redukce hmotnosti (u parciální jejuno-ileální diverze byla úspěšnost 48 % EWL-„Excess Weight Loss“), u plikace žaludku 51 % EWL a neúspěšnější byla sleeve resekcce se 76 % EWL) s metabolickým účinkem jako jsou např. sledované pozitivní změny rizikových složek metabolického syndromu dle verze definice ATP III – snížení hladin ranní glykémie, zvýšení HDL cholesterolu a snížení triacylglycerolů v krvi, snížení obvodů pasu i snížení krevního tlaku či přímo vymizení metabolického syndromu. Významným výsledkem je fakt, že z celého vzorku při vyhodnocení vstupního měření před bariatrckým výkonem jevílo známky metabolického syndromu 68.9 % sledovaných probandů. A následně při ukončení sledování pak už významně méně, a to 22.2 % probandů. V rámci hodnocení rizika pro vznik kardiovaskulárních chorob dle zastoupení viscerálního tuku (VAT area) při vstupním měření denzitometrické měření prokázalo až u 87.7 % probandů vysoké riziko, po ukončení ročního sledování pak stále 40 % probandů jevílo známky tohoto rizika. Bylo také zjištěno, že jejich množství viscerálního tuku velice dobře koreluje s uvedenými rizikovými složkami metabolického syndromu. Pokud se totiž redukovalo množství viscerálního tuku, snížilo se i celkové riziko pro vznik metabolického syndromu.

Výsledky potvrzují známé pozitivní vlivy bariatrcké chirurgie na hladiny glykémie a celkově na diabetes mellitus. Studie pak také prokazuje, že bariatrcká chirurgie má významný pozitivní vliv i na metabolický syndrom, změny hodnot viscerálního tuku a rizika kardiovaskulárních chorob.

OBESITY-ASSOCIATED METABOLIC SYNDROME AND LOW-GRADE INFLAMMATION INDUCED BY LONG-TERM CONSUMPTION OF A CAFETERIA DIET IN FEMALE RATS

*Feješ A., Szabó J., Janko J., Sušienková P., Slivková I., Kunšteková V., Mihalovičová L., Pastorek M., Borbélyová V., Celec P., Šebeková K.
Institute of Molecular Biomedicine, Faculty of Medicine, Comenius University, Bratislava*

Introduction: Metabolic syndrome (MetS) increases the risk of cardiovascular morbidity and mortality, thus representing a global health problem. The prevalence of MetS increases with ageing, and obesity-associated MetS is more common in post-menopausal women than aged-matched men. Low-grade inflammation plays a role in the development of MetS complications. We studied the markers of inflammatory status in cafeteria diet-induced obesity-associated MetS in female Wistar rats.

Methods: 8-week-old female Wistar rats were divided into two groups with similar body weights. The control group (CTRL; n=10) was fed a standard chow, and the experimental one a cafeteria diet (CAF; n=10). After 11 months, rats underwent oral glucose tolerance test, morphometric and blood pressure measurements, and blood sampling to determine total blood counts, concentrations of triacylglycerols, total and HDL-cholesterol, advanced oxidation protein products (AOPPs), extracellular DNA (ecDNA), and DNase activity. Index of insulin sensitivity (QUICKI), the area under the glycemic curves (AUC), waist/length ratio, body mass index (BMI), and a continuous MetS score (a sum of blood pressure, QUICKI, waist/length ratio, concentrations of triacylglycerols, and HDL-C (inverted) Z-scores) were calculated.

Results: The CAF females displayed higher body weight (by 47.7%), larger waist/length ratio (by 19.5%), higher BMI (+39.5%) and glycemic AUC (15.3%), lower QUICKI (by 18.6%), higher systolic blood pressure (+21 mmHg), and concentration of total (by 54%), and HDL- (by 43.5%) cholesterol compared to the CTRL females (all: $p < 0.05$), while concentrations of triacylglycerols did not differ significantly between groups. The MetS score was 1.5-fold higher in CAF females compared with the CTRL group ($p < 0.001$). The CAF females displayed higher neutrophil counts (by 49.8%), concentrations of AOPPs (2-fold), and ecDNA (+21.2%) than the CTRL group ($p < 0.05$, all); while DNase activity did not differ significantly. The MetS score positively correlated with the neutrophil counts ($r = 0.594$; $R^2 = 0.352$) and AOPP ($r = 0.602$; $R^2 = 0.363$) concentrations ($p < 0.01$, both).

Discussion and conclusion: Long-term administration of cafeteria diet-induced MetS is associated with an increased cardiometabolic risk estimated as a continuous MetS score. Higher concentrations of AOPPs (produced solely via myeloperoxidase reaction) in obese rats presenting with MetS indirectly indicate increased activation of neutrophils. Activated neutrophils can produce DNA-containing extracellular traps acting as damage-associated molecular patterns recognized by pattern recognition receptors. Thus, higher concentrations of ecDNA, but not changed DNase activity, might contribute to the initiation of the pathomechanism leading to sterile inflammation and cardiometabolic complications of the obesity-associated MetS.

This study was supported by the APVV grant No. 21-0355.

DERMATOGLYPHIC ASYMMETRY IN BOYS WITH AUTISM SPECTRUM DISORDERS AND PRENATAL TESTOSTERONE EXPOSURE IN RELATION TO HAND DEVELOPMENT

Kyselíková, K.¹, Jankovičová V.², Belica I.¹, Dukonyová D.¹, Ostatníková D.¹

¹Academic Research Centre for Autism, Institute of Physiology, Faculty of Medicine, Comenius University Bratislava

²Department of Anthropology, Faculty of Natural Sciences, Comenius University Bratislava

Dermatoglyphic patterns are considered fossilized evidence of a specific prenatal period. Their frequencies and localization might be a good indicator of developmental instability in individuals with an altered neurodevelopment as can be found in people with autism spectrum disorders (ASD). In this study, fingerprint pattern counts and fluctuating asymmetry in the distribution of patterns are compared between 67 boys diagnosed with ASD (aged 5.11 ± 2.51 years) and 83 typically developing boys (aged 8.58 ± 3.14 years). Boys with ASD had a higher rate of discordance in their fingerprint patterns ($p = 0.0026$), they presented significantly less ulnar loops ($p = 0.016$), but more whorls ($p = 0.034$) and tented arches ($p = 0.025$) in the right hand. Differences in laterality were found to be significant for the fifth finger ($p = 0.0062$). The Asymmetry is present even on the level of second degree dermatoglyphic details (minutiae) and was analyzed on a subsample of 39 boys diagnosed with ASD. Significantly less (<0.0001) second level details were found in the left hand of ASD boys within the pattern whorl and ulnar loop. Among potential stressors causing developmental instability resulting in fluctuating asymmetry (FA) in pattern distribution, high levels of testosterone might be related to fingerprint pattern discordance. Prenatal testosterone exposure was assessed through 2D:4D (2nd to 4th digit ratio) and compared between individuals of a high and low level of FA, showing differences ($p = 0.0500$) between these two groups. This research was supported by the Slovak Research and Development Agency, grant number APVV-20-0070.

ZMĚNY EXPRESE MIRNA V PRŮBĚHU ROZVOJE ANTRACYKLINOVÉ KARDIOMYOPATIE U KRÁLÍKA

Adamcová M.¹, Párová H.², Baranová I.², Lenčová-Popelová O.³, Kollarová-Brázdová P.³, Mazurová Y.⁴, Štěrbá M.³

¹Ústav fyziologie

²Ústav klinické biochemie a diagnostiky, Univerzita Karlova, Lékařská fakulta v Hradci Králové a Fakultní nemocnice Hradec Králové

³Ústav farmakologie

⁴Ústav histologie a embryologie, Univerzita Karlova, Lékařská fakulta v Hradci

Celá řada studií naznačuje zapojení miRNA do patogeneze ANT kardiotoxicity, avšak málo je známo o změnách exprese miRNA v průběhu vývoje ANT kardiotoxicity, zvláště

v období přechodu subklinické chronické kardiotoxicity do manifestní kardiotoxicity s rozvinutou kardiomyopatií a srdečním selháním.

Kardiotoxicita byla navozena podáváním daunorubicinu samcům králíka (DAU, n=9; 3 mg/kg, 1x týdně; po dobu 5 a 10 týdnů) a porovnána s kontrolní skupinou (n=7, fyziologický roztok ve stejném schématu). První analýza byla provedena po 5 cyklech DAU (kumulativní dávka ~250 mg/m²) kdy byly prokázány první známky kardiotoxicity, tj. signifikantně zvýšené plazmatické hladiny srdečního troponinu T (cTnT 0,018±0,003 µg/L vs. 0,006±0,001 µg/L; p<0,001). Histologické vyšetření odhalilo pouze drobné degenerativní změny kardiomyocytů. Druhá analýza byla provedena po 10 DAU cyklech (kumulativní dávka ~500 mg/m²), které vyvolaly významnou systolickou dysfunkci LK (FS 41,2±0,4 % vs. 29,0±2,9 %; p<0,001 a dP/dtmax 8714±275 vs. 5341±499 mmHg/s; p<0,001) a typické histopatologické známky chronické ANT kardiotoxicity.

Na základě výsledků získaných z karet TaqMan® Advanced miRNA Human A and B Cards bylo vybráno 32 miRNAs pro stanovení pomocí kvantitativní Real-time PCR se specifickými sondami (TaqMan® Advanced miRNA Assay).

Po 5 cyklech DAU bylo 10 miRNA signifikantně up-regulováno: miR-let-7f-2-3p (p<0,05), miR-20b-5p (p<0,05), miR-21-3p (p<0,05), miR-21-5p (p<0,05), miR-34a-3p (p<0,001), miR-34a-5p (p<0,001), miR-34c-5p (p<0,01), miR-142-3p (p<0,05), miR-155-5p (p<0,001) s dominantní změnou miR-1298-5p (29násobná změna, p<0,01). Nejvýznamnější korelace byla nalezena mezi cTnT a miR-34a-5p (0,765; p<0,001), která má vztah k p53-zprostředkované signalizaci DNA poškození.

Po 10 cyklech DAU byla významně downregulována pouze miR-504-3p (p<0,01) a 11 miRNA bylo upregulováno: miR-21-3p (p<0,01), miR-21-5p (p<0,001), miR-34a-3p (p<0,01), miR-34a-5p (p<0,001), miR-34c-5p (p<0,001), miR-142-3p (p<0,01), miR-155-5p (p<0,001), miR-223 (p<0,001), miR-433-3p (p<0,05), miR-1298-5p (p<0,001) s dominantní změnou miR-34a-5p (76násobná změna). Většina miRNA významně pozitivně korelovala s cTnT a negativně s parametry systolické dysfunkce (LVFS a dP/dtmax). Nejvýznamnější korelace byla nalezena mezi miR-21-5p a LVFS a dP/dtmax (-0,959; p<0,001, resp. -0,890; p<0,001) a miR-223-3p (-0,911; p<0,001; resp. -0,803; p<0,001), které se podílejí na alteraci AM můstků a fibróze.

Tato studie prokázala deregulaci miRNA v myokardu LK po opakovaném podání DAU ještě před nástupem dysfunkce LK. Většina těchto změn významně korelovala s cTnT jako senzitivním markerem myokardiálního poškození. Při dvojnásobné kumulativní dávce došlo ke kvantitativním i kvalitativním změnám profilu miRNA, které korelovaly nejen s cTnT, ale i s parametry systolické dysfunkce, tj. FS a dP/dtmax. Analýza cílových molekul miRNA ukázala, že většina deregulovaných miRNA nesdílí stejné geny, ale spíše ovlivňuje širokou škálu dějů zahrnujících tzv. „DNA damage response“, oxidační stress, apoptózu, autofagii, Ca homeostázu i fibrózu.

VPLYV POLYFENOLU EGCG NA ZÁPALOVÉ A VČASNÉ FIBROTICKÉ ZMENY V ANIMÁLNO M ODELI SILIKÓZY

Adamčáková J.¹, Bálentová S.², Adamkov M.², Barošová R.¹, Hanusrichterová J.¹, Mikolka P.³, Pršo K.⁴, Kalenská D.⁵, Mokrý D.¹

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

²Ústav histológie a embryológie, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave, Martin

³Martinské centrum pre biomedicínu, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave, Martin

⁴Ústav farmakológie, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave, Martin

⁵Ústav anatómie, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave, Martin

Úvod: Silikóza je neinfekčné ochorenie pľúc patriace medzi pneumokoniózy, ktoré je spôsobené vdychovaním častôčiek prachu obsahujúcich oxid kremičitý (silíku). Pre toto ochorenie je charakteristický počiatkový progresívny zápal pľúc a následná fibróza tkaniva. Môže sa prejaviť niekoľko týždňov až rokov po vystavení oxidu kremičitému a bežne sa vyskytuje v povolaniach, ako je baníctvo alebo výroba skla. V súčasnosti neexistuje žiadna kauzálna liečba silikózy, väčšina pacientov sa lieči iba symptomaticky pomocou bronchodilatancií, antitusík alebo mukolytík. Nedávne štúdie však naznačujú, že niektoré rastlinné zlúčeniny môžu spomaliť rozvoj podobných fibrotických ochorení. EGCG (epigallokatechin-3-gallát) je polyfenolová látka nachádzajúca sa napr. v zelenom čaji, o ktorej sa uvádza, že má protizápalové, antioxidantné a antifibrotické vlastnosti. Cieľom našej štúdie bolo vyhodnotiť včasné účinky EGCG na markery zápalu a pľúcnej fibrózy u potkanov s ochorením silikózy.

Metodika: V štúdiu sme použili 48 dospelých potkanov, samcov kmeňa Wistar, ktoré boli rozdelené do 3 skupín. Model silikózy bol vyvolaný jednorazovou transorálnou intratracheálnou instiláciou oxidu kremičitého (50 mg/ml/zviera), zatiaľ čo kontroly dostali ekvivalentný objem fyziologického roztoku. Liečba intraperitoneálnym EGCG (20 mg/kg hmotnosti alebo fyziologický roztok u kontrol) sa začala nasledujúci deň po instilácii oxidu kremičitého a podávala sa dvakrát týždenne. Zvieratá boli usmrtené 14 dní po začiatku liečby (na vyhodnotenie zápalových zmien) alebo po 28 dňoch podávania terapie (na vyhodnotenie skorých fibrotických zmien). Hodnotili sme celkový a diferenciálny počet leukocytov v krvi aj v tekutine z bronchoalveolárnej laváže (BALF) a stanovili sme aj niektoré markery zápalu a fibrózy v homogenátoch pľúc. Sledovala sa taktiež prítomnosť kolagénu a množstvo hladkosvalového aktínu-alfa (α -SMA) v stenách bronchiolov a pľúcnych ciev pomocou imunohistochemického farbenia.

Výsledky: EGCG liečba viedla k miernemu poklesu celkového počtu buniek v BALF a znížila percentuálne zastúpenie neutrofilov, lymfocytov a eozinofilov. EGCG tiež recipročne zvýšil počet cirkulujúcich leukocytov a percenta neutrofilov v krvi. V homogenáte pľúcneho tkaniva sme zistili pokles koncentrácií niektorých zápalových markerov (TNF α , IL-6, CXCL1) a tiež indikátorov fibrózy (TGF- β 1, hydroxyprolín), čo bolo v súlade so významným znížením imunohistochemických markerov fibrózy (kolagén, α -SMA).

Záver: Včasná liečba EGCG ukázala určitý potenciál EGCG na zmiernenie zápalu

a zníženie fibrotických zmien v bronchioloch a pľúcnych cievach. Výskum v danej oblasti by však mal pokračovať a objasniť ďalšie pozitívne, ale aj prípadné nežiaduce účinky tejto látky v ďalších animálnych modeloch ochorenia ako aj v klinických štúdiách predtým, ako bude možné EGCG odporúčať v rámci liečby silikózy. Práca bola podporená projektami VEGA 1/0131/22 a APVV-15-0075.

VPLYV REMOTE ISCHEMICKÉHO PRECONDITIONINGU NA KARDIOPROTEKTÍVNU REGULÁCIU MITOCHONDRIÁLNEHO PROTEÓMU

Andelová N.¹, Waczulíková I.², Farkašová V.¹, Ravingerová T.¹, Ferko M.¹

¹Ústav pre výskum srdca, Centrum experimentálnej medicíny SAV, v.v.i., Bratislava

²Oddelenie jadrovej fyziky a biofyziky, Fakulta matematiky, fyziky a informatiky Univerzity Komenského, Bratislava

Úvod: Adaptácia srdca na ischémiu predstavuje jeden zo spôsobov kardioprotektívnej intervencie. V tejto súvislosti sme sa venovali štúdiu remote ischemickému preconditioningu (RPC), ktorý preukázal zvýšenú toleranciu myokardu voči záťaži a jeho pozitívny účinok bol potvrdený zlepšením viacerých fyziologických parametrov po ischemicko/reperfúznom (I/R) poškodení. Do kardioprotektívnych dráh RPC je významným spôsobom zapojená aj mitochondriálna modulácia.

Cieľ: Naším cieľom bolo prispieť k objasneniu možných iniciátorov kardioprotektívnej signalizácie navodenej skorou fázou RPC prostredníctvom proteínov identifikovaných kvantitatívnou label-free LC-MS/MS proteomicou analýzou izolovaných srdcových mitochondrií.

Metodika: Samce potkanov kmeňa Wistar boli vystavené RPC pozostávajúceho z 3 cyklov 5-minútovej ischémie a reperfúzie pravej zadnej končatiny femorálnej artérie nafúknutím tlakovej manžety na 200 mmHg. Extrahované srdcia boli následne perfundované metódou podľa Langendorffa (15 minút stabilizačná fáza, 30 minút globálnej ischémie a 40 minút reperfúzie).

Výsledky: Pri identifikácii účinku skorej fázy RPC na mitochondriálny proteóm sme zaznamenali stimuláciu proteínov zapojených do dráhy β -oxidácie mastných kyselín, Krebsovho cyklu a proteínov s antioxidačnou aktivitou (PRDX3, PRDX5, SODM). K najvýznamnejšie ovplyvneným proteínom fenoménom RPC bol peroxiredoxín-5 (PRDX5), proteín s cytoprotektívnou funkciou. Expresia PRDX5 bola vplyvom I/R poškodenia znížená, ale účinkom RPC došlo k jej významnej up-regulácii ($p = 0,0002$). PRDX5 tak môžeme považovať za potenciálny marker podieľajúci sa na zabezpečení kardioprotektívnej signalizácie indukovanej RPC.

Záver: Pilotné proteomické analýzy odhalili kardioprotektívny účinok RPC aj z pohľadu regulácie mitochondriálnych proteínov s funkciou nasmerovanou k energetickej udržateľnosti myokardu.

Táto štúdia bola podporená: APVV 15-0119, APVV 19-0540, APVV 21-0410, APVV 20-0242, VEGA 1/0775/21, VEGA 1/0016/20, VEGA 2/0016/23.

THE SLOW-RELEASING HYDROGEN SULFIDE DONOR, GYY4137, AND ITS VASOACTIVE EFFECT IN MESENTERIC ARTERY

Aydemir B.G., Berenyiova A., Golas S., Cacanyiova S.

Institute of Normal and Pathological Physiology, Centre of Experimental Medicine, Slovak Academy of Sciences

Introduction: Hydrogen sulfide (H₂S) is an important gaseous transmitter that could interfere with the etiopathogenesis of different cardiovascular and metabolic diseases. However, H₂S in interaction with nitric oxide (NO) may also trigger compensatory vasoactive effects to counterbalance pathologically increased vascular tone in both arterial hypertension and metabolic syndrome. Increased fructose consumption induces metabolic-syndrome-like pathologies and modulates vasoactivity and the participation of NO and H₂S.

Aim: The aim of our study was to investigate whether a slow-releasing H₂S donor, GYY-4137, could exert beneficial activity on vasoactive responses in conditions of increased fructose intake.

Method: 12-weeks-old SHR were divided into three groups: control rats, rats treated with 10% fructose in drinking water for 8 weeks, and rats treated with fructose and during the last three weeks with H₂S donor, GYY4137 (266 µg/kg/day, i.p.). Vasoactivity of the isolated mesenteric artery (MA) was recorded as changes in isometric tension. H₂S inhibition was performed by acute incubation with DL-propargylglycine (PPG, 10 mmol/l). Acute incubation with NG-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME, 10⁻⁵ mol/l) was used for inhibition of NO production.

Results: The chronic fructose intake significantly increased the plasma level of triacylglycerols (TAG) and this effect was partially attenuated by treatment with an H₂S donor. The systolic blood pressure (SBP) was increased in fructose-fed rats, however 3-week-long treatment with GYY4137 decreased the SBP. We observed that fructose intake enhanced endothelium-dependent vasorelaxation and decreased adrenergic contraction of MA, along with the sensitivity to noradrenaline remained unchanged. While GYY4137 administration did not significantly affect vasorelaxant responses, it partially restored reduced contractility in fructose-fed rats. There was no difference in the participation of endogenous H₂S in vasoactive responses among groups. While a significantly decreased participation of NO in contractile response was demonstrated in GYY4137 only, the acute pretreatment with L-NAME, inhibited the vasorelaxant response significantly more in fructose and GYY4137-treated rats.

Conclusion: Our results suggest that fructose intake triggered compensatory vasoactive responses of the MA which included the action of the NO signal pathway. Moreover, a slow H₂S-releasing donor could partially amend metabolic-related changes and ameliorate impaired mesenteric contractility.

SHANK3 DEFICIT JE SPREVÁDZANÝ ZMENAMI MARKEROV INHIBIČNEJ NEUROTRANSMISIE A SPRÁVANIA V ADOLESCENCII U MYŠACIEHO MODELU

Bačová Z.¹, Havránek T.^{1,2}, Mihalj D.¹, Melíšková V.^{1,2}, Ostatníková D.², Bakoš J.^{1,2}

¹Ústav experimentálnej endokrinológie, Biomedicínske centrum SAV v.v.i., Bratislava

²Fyziologický ústav, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava

Úvod: Prvé postnatálne týždne vývinu mozgu u experimentálnych myšacích modelov zodpovedajú skorému vývinu u ľudí, kedy procesy, ako je neurogenéza, migrácia a diferenciácia nervových buniek vytvárajú štrukturálny základ pre nervové okruhy ovplyvňujúce kognitívne funkcie a sociálne správanie. Za neoddeliteľnú súčasť patofyziológie autizmu sa považujú zmeny v rovnováhe medzi excitačnými a inhibičnými signálmi. Myši s deficitom Shank3 („SH3 and multiple Ankyrin repeat domains 3“) predstavujú transgénny model neurovývinovej poruchy s autistickou symptomatológiou.

Ciele: V našej štúdii charakterizujeme dôsledky deficitu Shank3 na správanie 7, 10 a 14 dňových mláďat ako aj na expresie špecifických markerov rôznych populácií neurónov v hipokampe a striáte 21 dňových mláďat Shank3 deficientných myší.

Materiál a metódy: Na 7., 10. a 14. postnatálny deň bola použitá štandardná batéria testov určená na sledovanie neuromotorického vývinu (negatívna geotaxia, odpoveď na taktilný a akustický podnet, vzpriamovací a úchopový reflex). Na 21. postnatálny deň bol izolovaný hipokampus resp. striátum a pomocou qPCR stanovené zmeny génovej expresie markerov jednotlivých populácií buniek.

Výsledky: Sledovanie správania poukázalo hlavne na odchýlky v odpovedi na akustický a taktilný podnet u Shank3 deficientných mláďat. Najvýznamnejšie zmeny na úrovni génovej expresie sme zaznamenali u markerov pre GABAergické neuróny (Gad65 a Gad67), ktoré boli signifikantne nižšie v hipokampe, ale naopak signifikantne vyššie v striáte Shank3 deficientných zvierat v porovnaní s kontrolnou skupinou.

Záver: Zmeny správania Shank3 deficientných zvierat sú sprevádzané zmenami v GABAergickej signalizácii.

Práca bola podporená grantami APVV-21-0189, APVV-20-0114, VEGA 2/0148/21.

KARDIOVASKULÁRNÍ SYSTÉM U PACIENTEK S TRIPLE NEGATIVNÍM KARCINOMEM PRSU PŘED ZAHÁJENÍM ANTRACYKLINOVÉ LÉČBY

Bartáková A.¹, Koloušková I.², Holánek M.^{3,4}, Selingerová I.⁵, Stračina T.¹, Kazda T.^{2,6}, Nováková M.¹

¹FgÚ, LF MU, Brno

²Klinika radiační onkologie, LF, MU, Brno

³KKOP, MOÚ, Brno

⁴KKOP, LF MU, Brno

⁵Výzkumné centrum aplikované molekulární onkologie, MOÚ, Brno

⁶Klinika radiační onkologie, MOÚ, Brno

Úvod: Stárnutí populace v rozvinutých zemích vede k častému souběhu kardiovaskulárních a onkologických onemocnění. Paralelní farmakologická terapie

týchto onemocnění otevírá otázku lékových interakcí, které mohou mít vliv nejen na účinky protinádorové léčby, ale i na kvalitu života a prognózu pacientů.

Metodika: Předmětem této práce je analýza souboru 170 pacientek s diagnózou triple negativní karcinomu prsu, léčených na Masarykově onkologickém ústavu v letech 2015–2022 neoadjuvantní chemoterapií antracykliny. Soubor byl popsán následujícími parametry: věk, BMI, arteriální krevní tlak, ejekční frakce levé komory, EKG parametry včetně stanovení QTc, pravidelně užívané léčivé přípravky a diagnostikovaná kardiovaskulární onemocnění v době před zahájením léčby doxorubicinem.

Výsledky: Bylo zjištěno, že nejčastějším kardiovaskulárním onemocněním v tomto souboru pacientek byla hypertenze a nejčastější farmakoterapií tohoto onemocnění ACE inhibitory.

Závěr: Výsledky analýz tohoto souboru se stanou podkladem pro vytvoření komplexního modelu doxorubicinové kardiotoxicity u laboratorního potkana. Tento animální model umožní studovat současné působení antihypertenziv a různých kardioprotektivně působících látek.

Podpořeno projekty MUNI/LF-Sup/1064/2022 a MUNI/A/1342/2022.

VPLYV QUERCETÍNU NA RENÁLNÍ NA,K-ATPÁZU U POTKANOV KMEŇA ZDF

Vlkovičová J., Barteková M., Šnúrliková D., Kornieieva D., Ferenczyová K., Kaločayová B.

Centrum experimentálnej medicíny SAV, v. v. i, Bratislava

Úvod: U ZDF (Zucker diabetic fatty) potkanov vzniká ochorenie diabetes mellitus 2. typu v dôsledku mutácie v leptínovom receptore. Následkom je zvýšená hladina cirkulujúceho leptínu a zároveň relatívny nedostatok inzulínu, kedy bunky nie sú schopné prijímať glukózu. Dochádza vzniku hyperglykémie. Tá z dlhodobého hľadiska spôsobuje rôzne zdravotné komplikácie. Cieľom práce bolo zistiť, vplyv hyperglykémie na obličkovú Na,K-ATPázu (NKA), enzým, ktorý pomáha udržiavať osmotickú rovnováhu tým, že aktívne pumpuje ióny Na^+ z tubulárnych buniek von do krvi.

Metódy: Ako model nám slúžili 6-mesačné obézne potkany ZDF a k nim kontrolné chudé potkany ZDF. Okrem toho sme zvieratám podávali po dobu 6 týždňov flavonoid kvercetín (KVE, 20 mg/kg/deň), ktorý vykazuje protektívny účinok na viacerých úrovniach a jeho pôsobenie súvisí najmä s antioxidačnou aktivitou a protizápalovým pôsobením. Metódy in vitro aktivácie NKA vzrastajúcimi koncentraciami substrátu ATP (0.16-8.0 mmol.l⁻¹) alebo kofaktora Na^+ (2 – 100 mmol.l⁻¹) nám poskytli informácie o schopnosti enzýmu viazať energetický substrát ATP a ióny Na^+ v nami stanovených podmienkach.

Výsledky: Zistili sme, že čím je hladina glukózy u obéznych ZDF potkanov vyššia, tým je aj aktivita obličkovej NKA vyššia. Podávanie KVE znížilo aktivitu NKA u kontrolných, ako aj u diabetických zvierat pri stimulácii enzýmu substrátom ATP, avšak nie pri stimulácii enzýmu kofaktorom Na^+ . Afinita k iónom Na^+ , či k ATP sa medzi experimentálnymi skupinami nelíšila. Jedine v kontrolnej skupine bolo podávanie KVE sprevádzané zvýšením afinity k ATP a zároveň znížením maximálnej rýchlosti enzýmovej reakcie. Imunochemická detekcia metódou Western blotu nám poskytla informácie o proteínovej expresii katalytickej alfa1 podjednotky, ako aj jej chaperónu, beta1 podjednotky NKA,

v podmienkach diabetu mellitu 2.typu s následným podávaním KVE. Zaznamenali sme signifikantný pokles proteínovej expsie oboch podjednotiek Na,K-ATPázy (alfa1, beta1) v skupine kontrolných zvierat s KVE, čo je v súlade s našimi kinetickými meraniami, kde sme v tejto skupine zaznamenali pokles Vmax po stimulácii so substrátom ATP. U diabetických potkanov sme zaznamenali po podávaní KVE čiastočnú normalizáciu proteínovej expsie alfa1, beta1 podjednotiek Na,K-ATPázy.

Záver: Na záver možno povedať, že maximálna rýchlosť enzýmového transportu korelovala s narastajúcou glykémiou u ZDF potkanov. Podávanie kvercetínu chudým kontrolným ZDF potkanom znižovalo oproti kontrolám nielen rýchlosť enzýmovej reakcie, ale aj expresiu podjednotiek NKA. Na druhej strane, podávanie kvercetínu obézny diabetickým ZDF potkanom čiastočne normalizovalo oproti diabetickej skupine nielen aktivitu NKA, ale aj expresiu alfa1, beta1 podjednotiek Na,K-ATPázy. Tento projekt bol financovaný z grantov VEGA 2/0148/22 a APVV-21-0194.

EFEKT AKÚTNEHO STRESU NA EXEKUTÍVNE FUNKCIE NADANÝCH DETÍ

Belica I.^{1,2}, Žilková V.¹, Janšáková K.¹, Celušáková H.¹, Rajčániová E.^{2,3}, Balážová M.², Kyselicová K.¹, Sónak Ballová D.⁴, Laznibatová J.², Ostatníková D.¹

¹Fyziologický ústav, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave

²Výskumný ústav detskej psychológie a patopsychológie, Bratislava

³Katedra psychológie, Filozofická fakulta, Trnavská univerzita v Trnave

⁴Katedra matematiky a deskriptívnej geometrie, Stavebná fakulta, Slovenská technická univerzita

Úvod: Štúdie naznačujú, že exekutívne funkcie (EF) a inteligencia spolu do istej miery súvisia, ale vzťah medzi týmito premennými nebol doposiaľ vymedzený. Uvedené štúdie sa však zameriavajú najmä na skupinu adolescentov a dospelých. Podobne, existujú viaceré štúdie sústreďujúce sa na efekt stresu na EF, ale tiež sa zameriavajú hlavne na skupinu adolescentov a navyše nezohľadňujú úlohu IQ. S prihliadnutím na zameranie týchto štúdií sme skúmali efekt stresu na EF u detí s rôznymi intelektuálnymi schopnosťami.

Metodika: Štúdie sa zúčastnilo 52 detí vo veku 10-12 rokov. Všetci účastníci podstúpili testovanie EF v dvoch podmienkach: stresovej a kontrolnej. Medzitým podstúpili IQ testovanie, na základe ktorého boli rozdelení do 3 skupín, podľa klasifikácie Woodcocka a Johnsona: nadaní (IQ>130), nadpriemerní (IQ 129-121) a priemerní (IQ≤120). Počas oboch podmienok bola odoberaná nestimulovaná slina, v ktorej bola analyzovaná koncentrácia kortizolu ako indikátor stresu. Počas stresovej podmienky bola procedúra nasledovná: prvý odber sliny, stresový podnet (Trierov test sociálneho stresu), druhý odber sliny a testovanie EF (Obrátené číselné rady, Hanojská veža, Test sémantickej verbálnej fluencie, Test fonematickej verbálnej fluencie, Stroop test a Test cesty). Počas kontrolnej podmienky bola procedúra nasledovná: prvý odber sliny, testovanie EF, druhý odber sliny.

Výsledky: ANCOVA preukázala významne lepšie výsledky nadaných detí v porovnaní s deťmi s priemerným IQ v Teste cesty a Obrátených číselných radách. Deti s nadpriemerným IQ mali významne lepšie výsledky než deti s priemerným IQ v Obrátených číselných radách. Analýza nepreukázala efekt testovacej podmienky

ani kortizolu na EF. Nepreukázal sa nárast kortizolu po vystavení stresu a ani rozdiely v koncentrácii kortizolu medzi IQ skupinami. Nepreukázalo sa, že úroveň intelektu ovplyvňuje efekt stresu na úspešnosť v testoch EF.

Záver: Výsledok podporuje zistenia, že vyšší intelekt je spojený s lepšou pracovnou pamäťou. Nedostatočná kortizolová reakcia na stres môže súvisieť s vekom a/alebo s odberom vzoriek v rannom čase, napriek tomu v príspevku argumentujeme, že účasťníci prežívali stres. Nepreukázaný efekt stresu na EF môže súvisieť s vekom. Nepreukázaný vzťah kortizolu s výkonom v testoch EF môže opäť súvisieť s vekom a/alebo jeho nízkou koncentráciou.

Podporené grantami: APVV-20-0139, APVV-20-0070, VEGA1/0068/21, VEGA1/0802/20.

VPLYV TLMENÉHO OSVETLENIA POČAS NOCI NA ČASOVO REGULOVANÉ ZMENY LIPIDOVÉHO METABOLIZMU POČAS ZÁPALU

Benediková B., Jerigová V., Rumanová S.V., Zeman M., Okuliarová M.

*Katedra fyziológie živočíchov a etológie, Prírodovedecká fakulta Univerzity
Komenského, Bratislava*

Úvod: Pre optimálny priebeh imunitnej reakcie je dôležité zabezpečiť dostatok energetických zdrojov, ktoré pochádzajú aj z lipidového metabolizmu. Metabolizmus aj imunitné parametre sú cirkadiánne kontrolované, a preto imunitná odpoveď vyvolaná v rôznych časoch počas 24 hodín môže spôsobiť odlišnú adaptáciu lipidového metabolizmu. Pre cirkadiánnu kontrolu týchto procesov je potrebný pravidelný cyklus svetla (L) a tmy (D), preto narušenie svetelných podmienok, napríklad tmeným nočným osvetlením, môže ovplyvniť odpoveď lipidového metabolizmu na zápalový stimul.

Ciele: Analyzovať dennú variabilitu zmien lipidového metabolizmu počas neinfekčného zápalu indukovaného v rozdielnych časoch dňa a vyhodnotiť vplyv svetelnej kontaminácie na tieto zmeny.

Metódy: Samec Wistar potkanov boli 2 týždne vystavené kontrolnému režimu 12L:12D h alebo režimu s tmeným osvetlením ~2 luxy počas noci (ALAN). Zápal bol vyvolaný intraperitoneálnym podaním lipopolysacharidu (LPS) na začiatku aktívnej alebo pasívnej fázy. Tri hodiny po aplikácii boli jedince dekapitované. V izolovanom pečenevom a tukovom tkanive sme pomocou real-time PCR analyzovali expresiu génov a v krvi sme stanovili hladiny leptínu a adiponektínu pomocou ELISA.

Výsledky: V pečeni sme pozorovali LPS-indukované zníženie expresie syntázy mastných kyselín a trend k zvýšeniu expresie CD36 v aktívnej fáze. V tukovom tkanive sa vplyvom LPS zvýšila expresia enzýmu nikotínamidfosforibozyl-transferázy (Nampt) v pasívnej fáze, pričom ALAN dennú variabilitu v odpovedi potlačil. Naopak, expresia ATP-citrát-lyázy sa zvýšila po podaní LPS v aktívnej fáze. Expresia transkripčných faktorov regulujúcich lipidový metabolizmus, ako sú Srebp-1c, Ppar α a γ , bola po podaní LPS znížená bez ohľadu na fázu dňa a režim. ALAN zabránil zníženiu koncentrácie adipokínov po LPS stimulácii v pasívnej fáze.

Záver: Naše výsledky naznačujú, že zápal vyvolaný v rôznych časoch dňa vyvoláva odlišnú reakciu lipidového metabolizmu a expozícia ALAN môže narušiť od fázy dňa závislú metabolickú adaptáciu na zápal na úrovni adipokínov a niektorých enzýmov.

Práca bola podporená grantom APVV-21-0223 a VEGA 1/0565/22.

ÚČINOK ZOFENOPRILU, H₂S UVOLŇUJÚCEHO INHIBÍTORA ACE, NA KARDIOVASKULÁRNY SYSTÉM SPONTÁNNE HYPERTENZNÝCH POTKANOV V PODMIENKACH INHIBÍCIE ACE2

Cacanyiova S. Cebova M., Simko F., Baka T., Bernatova I., Zorad S., Krskova K., Shaman E., Zemancikova A., Aydemir B.G., Berenyiova A.

Ústav normálnej a patologickej fyziológie, Centrum experimentálnej medicíny, Slovenská akadémia vied

Úvod: Angiotenzín-konvertujúci enzým-2 (ACE-2) predstavuje receptorové miesto pre tzv. „spike proteín vírusu SARS-CoV-2, ktorý vyvolal celosvetovú pandémiu COVID-19. V kardiovaskulárnom systéme spôsobuje väzba vírusu na transmembránovú formu ACE2 dysfunkciu signálnej dráhy Mas receptorov a následne oxidu dusnatého (NO), čo podporuje vznik endotelovej dysfunkcie, zápalu a trombogenézy. Inhibícia účinku ACE2 vyvolaná vírusovou infekciou by mohla byť škodlivá obzvlášť u jedincov s rozvinutou hypertenziou či srdcovým ochorením. Zofenopril, inhibítor angiotenzín konvertujúceho enzýmu (ACEI) uvoľňujúci H₂S, je účinný pri liečbe jedincov s esenciálnou hypertenziou; avšak vplyv inhibície ACE2 na jeho priaznivý účinok zostáva neznámy.

Cieľ: Cieľom práce bolo zistiť účinok zofenoprilu na kardiovaskulárny systém spontánne hypertenzných potkanov, ktoré sú animálnym modelom ľudskej esenciálnej hypertenzie a zlyhávajúceho srdca, v podmienkach inhibície ACE2 vyvolanej podávaním špecifického inhibítora MLN-4760 (MLN).

Metódy: Dospelí samci SHR boli rozdelení do štyroch experimentálnych skupín: kontrolná skupina, skupina liečená MLN, skupina liečená zofenoprilom a skupina liečená MLN a zofenoprilom. MLN rozpustený v 10% dimetylsulfoxide bol podávaný pomocou miniosmotických púmp počas 14 dní v dávke 1 mg/kg/deň, zofenopril kalcium bol podávaný p.o. od 5. dňa v dávke 10 mg/kg/deň počas 10 dní. Transtorakálna echokardiografia bola použitá na posúdenie systolickej a diastolickej funkcie ľavej komory. Integrovaná odpoveď krvného tlaku in vivo sa hodnotila po zavedení senzora do a. carotis, vazoaktívne odpovede izolovanej hrudnej aorty boli merané pomocou snímania zmien izometrickej tenzie

Výsledky: Liečba zofenoprilom znížila adipozitu indukovanú MLN a viedla k priaznivému zväčšeniu ejekčnej frakcie ako aj k zlepšeniu diastolickej funkcie ľavej komory bez ohľadu na inhibíciu ACE2 čo bolo spojené so zvýšenou hladinou H₂S v plazme a srdcovom tkanive. Podobne, hypotenzné odpovede vyvolané acetylcholínom, inhibítorom produkcie NO (NG-nitro-L-arginín metyl ester, L-NAME) a inhibítorom angiotenzín-konvertujúceho enzýmu kaptoprilom boli porovnateľné po podávaní zofenoprilu nezávisle od inhibície ACE2. Na druhej strane súčasná liečba zofenoprilom a MLN viedla k zväčšeniu vazorelaxačnej odpovede hrudnej aorty. Akútne predradenie L-NAME inhibovalo relaxačné odpovede v oboch skupinách liečených zofenoprilom podobne, zároveň signifikantne viac v porovnaní so skupinami kde nebol podávaný zofenopril. Zároveň, na rozdiel od kontrolnej skupiny vo všetkých ostatných skupinách participoval endogénne produkovaný H₂S na zachovaní od endotelu-závislej relaxácie, nakoľko podanie vychytávača H₂S (subsalcylát bizmutitý) viedlo k ich inhibícii.

Záver: Liečba zofenoprilom znížila adipozitu, zlepšila srdcovú funkciu a zväčšila participáciu H₂S a NO na udržiavaní endotelovej funkcie hypertenzných potkanov bez ohľadu na inhibíciu ACE2. Inhibícia ACE2 zároveň viedla k zväčšeniu vazorelaxačnej kapacity aorty po podávaní zofenoprilu. Naše výsledky potvrdili, že priaznivé účinky

zofenoprilu neboli ovplyvnené inhibíciou ACE2, zároveň predpokladáme, že už samotná inhibícia ACE2 môže viesť k aktivácii kompenzačných mechanizmov spojených s nitrózovou a sulfidovou signalizáciou prekrývajú tak účinok ACE1.

VLIV PROSTŘEDÍ NA HIPOKAMPÁLNÍ REGULAČNÍ PROTEINY DOSPÍVAJÍCÍCH POTKANŮ NEONATÁLNĚ VYSTAVENÝCH METAMFETAMINU

*Čechová B., Jurčovičová J., Mihalčíková L., Vaculín Š., Šandera Š., Šlamberová R.
Ústav fyziologie, 3. lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Praha
2 - Fakulta biomedicínského inženýrství, České vysoké učení technické v Praze*

Metamfetamin (MA) patří mezi nejjednodušší syntetické psychostimulanty a je jednou z nejvíce zneužívaných drog na světě. Zneužívání drog je již několik desítek let velkým společenským problémem a tento problém je často spojován s dospíváním. Uvádí se, že adolescence je jedním z nejkritičtějších vývojových období, a proto by mozek mohl být potenciálně citlivější na působení látek, či vlivy prostředí a jiné stresory právě v období adolescence. Velkým společenským problémem je i zneužívání drog u těhotných žen, neboť užívání drog v tomto období negativně ovlivňuje plod a může nevratně ovlivnit další prenatální a postnatální vývoj dítěte. V našem výzkumu jsme se zaměřili na dopad časné postnatální expozice MA (postnatální dny (PD) 1-12) na koncentrace některých regulačních proteinů, zodpovědných za vývoj nervové tkáně v hipokampu (HIPPO) a jejich přetrvávání do období adolescence. Zkoumali jsme rovněž možné pozitivní (obohacené prostředí (EE)) a negativní (stres způsobený sociální separací (SS) po odstavení) faktory ovlivňující postnatální vývoj. Sledovali jsme hladiny proteinu c-fos, protoonkogenu důležitého v mnoha buněčných procesech, ale také hladiny růstových faktorů, jako je BDNF a NGF, které podle několika studií podléhají změnám po expozici MA.

Mláďata laboratorního potkana byla vystavena MA nebo sham injekci po dobu prvních dvanácti postnatálních dnů, a to přímo nebo nepřímo (prostřednictvím mateřského mléka). V období před odstavením byla zvířata rozdělena na skupinu s EE či bez EE. Po odstavení byla zvířata ustájena ve skupině (přirozené prostředí) či separována (SS). Pokus byl ukončen v PD 28, 35 nebo 45, období, která reprezentují různé periody adolescence. Po ukončení experimentu jsme odebrali hipokampus, ve kterém jsme analyzovali koncentrace regulačních proteinů metodou ELISA a semikvantitativní kolorimetrickou metodou.

Naše výsledky ukazují, že časná postnatální expozice MA má vliv na hladiny c-fos u potkaního HIPPO spolu s SS. MA sama o sobě snižovala hladiny c-fos v rané adolescenci a SS způsobila zvýšení těchto hladin u kontrolních zvířat i zvířat vystavených MA. Podobný dopad byl pozorován z hlediska hladin BDNF a NGF. Pro lepší pochopení podstaty těchto změn se naše laboratoř bude v budoucnu věnovat studiu těchto změn na molekulární úrovni a také na úrovni změn receptorů pro dané modulatory.

Tento experiment byl podpořen grantem GAUK 144212, 260533/SVV/2022 a výzkumným programem Cooperatio Neurosciences Univerzity Karlovy, grantovým projektem GA 21-30795S Grantové agentury ČR a projektem PharmaBrain CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_025/0007444 OPVVV.

KETOGENIC DIET MITIGATES PATHOLOGICAL MANIFESTATIONS OF TMEM70 DEFICIENCY IN MOUSE KNOCKOUT MODEL

Červinková Z., Markovič A., Kovalčíková J., Pecina P., Pecinová A., Vrbacký M., Nusková H., Tauchmanová K., Shekar N., Kučera O., Houšťek J., Mráček T.
Department of Physiology, Faculty of Medicine, Charles University, Hradec Kralove Institute of Physiology, Czech Academy of Sciences, Prague

TMEM70 is a transmembrane protein localized in the inner mitochondrial membrane and involved in the biogenesis of eukaryotic ATP synthase. Mutations in TMEM70 cause isolated deficiency of ATP synthase that often leads to fatal neonatal mitochondrial encephalocardiomyopathy. There is currently no curative treatment for TMEM70-deficient patients. Since whole body *Tmem70* knockout mice model reveals embryonal lethality, we have generated inducible *Tmem70* knockout mice (*iTmem70*), which do display progressive disease phenotype with onset of lethality at eight weeks post-induction by tamoxifen. At molecular level, this is associated with pronounced decrease in the content of fully assembled F₁F₀-ATP synthase and accumulation of F₁ subcomplex. Histological and biochemical analyses show high level of liver damage, increase in oxidative stress and apoptosis. In addition, the phenotype is also associated with significant decrease in white blood cell count.

Since lipid infusions are known to be beneficial for TMEM70 patients during metabolic crises, we decided to evaluate the potential utility of a ketogenic diet in *iTmem70* mice model. The diet (control - protein 24 %, fat 15 %, and carbohydrates 61 % or ketogenic diet - protein 11 %, fat 84 %, and carbohydrates 5 %) was administered ad libitum from the point of *Tmem70* excision. Ketogenic diet shows stabilization in body weight and significantly prolongs overall survival of knockout mice 5.3 times versus control diet). It mitigates most of secondary defects caused by excision of this protein such as leukocytopenia, elevated ALT and AST activities, as well as liver focal necrosis. Interestingly, BNE/CNE/SDS analyses in the liver show increased content of subunit c, for which TMEM70 acts as an assembly factor. This was associated with increase in the amount of assembled ATP synthase and drop in the content of free F₁ domain. Ketogenic diet improves energetic function in *iTmem70*^{-/-} mice, most notably complex I respiration was severely reduced in affected animals and recovered to almost control levels on this diet. Metabolomic data show disturbances in urea cycle in *iTmem70* animals, which are also partially corrected by ketogenic diet.

In conclusion, *Tmem70* pathology in mice model is significantly attenuated by ketogenic diet and can be considered also for patients with ATP synthase dysfunction, where it was not yet considered as realistic treatment strategy.

The project is supported by the Czech Medical Research Council (NU21-07-00550).

TERAPEUTICKÝ ÚČINOK TRANSPLANTÁCIE ĽUDSKEJ FEKÁLNEJ MIKROBIOTY NA PRIEBEH EXPERIMENTÁLNEJ KOLITÍDY: PREDKLINICKÁ ŠTÚDIA NA PSEUDO GERM-FREE ANIMÁLNOU MODELI

Ryňiková M.¹, Adamková P.¹, Gancarčíková S.², Mudroňová D.², Demečková V.¹

¹Katedra fyziológie živočíchov, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Košice

²Katedra mikrobiológie imunológie, Univerzita veterinárneho lekárstva a farmácie v Košiciach, Košice

Úvod: Prevalencia zápalových ochorení čriev (IBD), medzi ktoré zaraďujeme najmä ulceróznou kolitídou (UC) a Crohnovu chorobu, má stúpajúci trend vo vyspelých aj rozvojových krajinách. Konvenčná medikamentózna terapia je u mnohých pacientov neefektívna alebo má množstvo nežiadúcich účinkov, preto sa súčasný výskum zameriava na alternatívne možnosti liečby, napr. prostredníctvom fekálnej mikrobiálnej transplantácie (FMT). Cieľom našej štúdie bolo overiť terapeutický potenciál FMT na pseudo germ-free (PGF) modeli UC.

Materiál a metodika: Samice myši BALB/c (n = 41; Velaz, Praha, Česká republika) podstúpili antibiotickú liečbu (5 dní) a následnú rekonvalescenciu (10 dní), čím bol navodený PGF status. Myši boli rozdelené do 3 experimentálnych skupín: zdravá kontrolná skupina (skupina INT; n = 12), skupina s navodenou kolitídou (skupina UC; n = 15) a skupina s navodenou kolitídou liečenou FMT (skupina FMT; n = 14). UC bola u zvierat navodená simultánnym podávaním dextrán sulfátu sodného (DSS) v pitnej vode a orálnym podávaním FMT od pacienta s UC po dobu 5 dní. Následne boli zvieratá v skupine FMT liečené orálnym podávaním FMT od zdravého donora (5 dní). V priebehu celého experimentu sme zaznamenávali zmenu hmotnosti zvierat, skóre rektálneho krvácania a skóre konzistencie trusu. Na základe týchto údajov sme vypočítali index aktivity ochorenia (DAI). V stanovených odberných bodoch (pred a po indukciu UC, ako aj po FMT liečbe) sme odobrali vzorky trusu a po usmrtení zvierat sme stanovili subpopulácie imunitných buniek črevnej sliznice pomocou prietokovej cytometrie. Z fekálnych vzoriek sme vyzisolovali bakteriálnu DNA, ktorá bola následne zaslaná na metagenomickú analýzu (Novogene Europe, Cambridge, Veľká Británia).

Výsledky: Hodnota DAI signifikantne stúpala od prvého dňa indukcie UC ($p < 0,001$) až po prvý deň terapie ($p < 0,01$). V priebehu nasledujúcich dní terapie sa hodnota DAI stabilizovala. Aj napriek tomu, že sme pozorovali klesajúci trend, tieto výsledky neboli štatisticky signifikantné. Metagenomická analýza potvrdila výrazné zníženie druhovej bohatosti mikrobioty fekálnych vzoriek (indexy chao1 ($p < 0,01$) a ACE ($p < 0,01$)). Zníženie druhovej bohatosti a diversity je považované za kľúčový element dysbiózy asociovanej s UC. Naopak, po FMT terapii došlo k signifikantnému zvýšeniu ukazovateľov druhovej diversity (shannon ($p < 0,01$) a simpson ($p < 0,001$)) v porovnaní s neliečenou skupinou UC. Analýza beta diversity taktiež ukázala, že po terapii došlo k signifikantnému zvýšeniu abundancie druhov *Bacteroides uniformis* ($p < 0,05$), *Lachnospiraceae bacterium NK4A136* ($p < 0,05$) a *Parabacteroides merdae* ($p < 0,05$). Znížená abundancia týchto druhov bola dokázaná u pacientov s UC. Na základe výsledkov prietokovej cytometrie môžeme konštatovať, že po navodení UC došlo v tkanive hrubého čreva k zvýšeniu počtu makrofágov ($p < 0,001$) a CD8+ T-lymfocytov ($p < 0,001$) pravdepodobne v dôsledku priebehu zápalového procesu. Po liečbe došlo v skupine FMT v porovnaní so skupinou

UC k zníženiu počtov CD4+ ($p < 0,01$) a CD8+ ($p < 0,001$) T-lymfocytov. Tieto výsledky naznačujú, že FMT terapia znížila intenzitu zápalového procesu v hrubom čreve. Okrem toho, v dôsledku FMT terapie sa súčasne zvýšil počet intraepiteliálnych CD4+CD8+ T-lymfocytov ($p < 0,001$), ktoré sa významne podieľajú na oprave črevnej epitelovej bariéry.

Záver: Výsledky našej štúdie potvrdzujú pozitívny terapeutický efekt FMT. Modulácia črevného mikrobiómu pomocou FMT od zdravého darcu zmiernila zápalové procesy v čreve a stabilizovala index aktivity ochorenia. Vplyvom FMT došlo k úprave črevnej dysbiózy pomocou zvýšenia celkovej druhovej diverzity aj abundancie konkrétnych bakteriálnych druhov. FMT ako jeden zo spôsobov modulácie črevnej mikrobioty teda predstavuje sľubnú formu terapie črevných zápalových ochorení.

Táto práca vznikla z finančnej podpory grantu VEGA 1/0015/21 a VVGS-2022-2195.

CIRCADIAN CLOCKS IN CHOROID PLEXUS AND ITS SENSITIVITY TO CHRONODISRUPTION

Drapsin M., Houdek P., Sumova A.

Fyziologický ústav AV ČR, Praha

Circadian rhythms regulate most of the physiological and behavioral processes with periodicity of approximately 24 hours. In mammals, the key players in this system are the master clock located in the suprachiasmatic nuclei (SCN), and the peripheral clocks that are distributed throughout the brain and other peripheral tissues. Recently, circadian clock was found also in epithelial cells of the choroid plexus (ChP). Despite significant advances in chronobiology field regarding the brain peripheral circadian clocks, the mechanism, regulation and entrainment for a plethora of clocks are still elusive. The main aim of the study was to elucidate impact of the disruptions in the circadian system on the circadian clocks in various brain regions, namely ChP, SCN, hippocampus (HIP), prefrontal cortex and cerebellum. Chronodisruption was achieved via disruptions in the regular light/dark (LD12:12) cycle. Transgenic PER2::LUC mice were divided into 3 groups which were 1) exposed to constant light for 24 weeks, 2) exposed to weekly 6 hours advance shifts in LD cycle for 11 weeks, and 3) left untreated as controls. The effect on the circadian clocks was studied in vitro by real-time monitoring of PER2-driven bioluminescence rhythms in organotypic explants of the brain regions (ChP from the fourth ventricle and SCN) at the tissue and cellular levels using Lumicycle and LV200 microscope, respectively. Clock gene transcript levels were detected in laser-dissected brain regions by RT qPCR. The in vitro data revealed that the clock in ChP and SCN differed in their sensitivity to chronodisruption, suggesting different pathways entraining these clocks. The pathways may involve effect of glucocorticoids because chronodisruption affected their receptors differently in the specific brain regions; it caused Nr3c1 downregulation in the ChP, its upregulation in the HIP, and no effect in the prefrontal cortex and cerebellum. These findings could provide a novel insight into the sensitivity of the brain clocks to chronodisruption and suggest involvement of different sensitivity of the circadian clocks to glucocorticoids as a plausible mechanism.

DAKTYLOSKOPICKÁ ANALÝZA DRUHOSTUPŇOVÝCH ÚTVAROV (MINÚCIÍ) U CHLAPCOV S PORUCHOU AUTISTICKÉHO SPEKTRA

Dukonyová D., Kyselicová K., Belica, I, Dočolomanská Z., Ostatníková, D.
Fyziologický ústav, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava

Foreign studies suggest a close relationship between dermatoglyphic features (fingerprints) and abnormalities in brain development, emphasizing a common embryonic origin. The here presented study aimed to discover abnormalities in the formation of fingerprints in a sample of 48 autistic boys (aged 2.75 to 12.92 years, SD = 2.56), by establishing the frequencies of second level details and analyzing bilateral differences in their occurrence. Using a detailed classification system (Gutiérrez et al. 2007), bilateral differences were found in the total number of second level details on the first ($p = 0.007$) and fourth fingers ($p = 0.037$), more of them occurring in the right hand. Statistically more papillary ridges were found on the first finger of the right hand as well. This sets a basis for further research in this field, suggesting fingerprints as suitable markers of developmental instability. Prenatal hormonal influences such as elevated fetal testosterone levels and their relation to both the autistic phenotype and the formation of fingerprints are discussed.

VPLYV CHRONICKEJ APLIKÁCIE FLAVONOIDU KVERCETÍNU NA ISCHEMICKO-REPERFÚZNE POŠKODENIE SRDCA U HYPERTENZNÝCH POTKANOV KMEŇA SHR

Duřová U.^{1,2}, Ferenczyová K.¹, Kindernay L.¹, Strapec J.¹, Vlkovičová J.¹, Bališ P.³, Barteková M.^{1,4}

¹Centrum experimentálnej medicíny SAV, v.v.i., Ústav pre výskum srdca, Bratislava

²Prirodovedecká fakulta, Katedra biochémie, Univerzita Komenského, Bratislava

³Centrum experimentálnej medicíny SAV, v.v.i., Ústav normálnej a patologickej fyziológie, Bratislava

⁴Univerzita Komenského, Fyziologický ústav Lekárskej fakulty, Bratislava

Úvod: Kvercetín (QCT) je najviac zastúpený flavonoid v ovocí a zelenine. Ako antioxidant pozitívne vplýva na široké spektrum mechanizmov v organizme vrátane benefičných účinkov na kardiovaskulárny systém. Predchádzajúce štúdie poukázali na kardioprotektívne účinky QCT voči ischemicko-reperfúznemu (I/R) poškodeniu srdca u zdravých a mladých potkanov, teda u jedincov bez prítomnosti komorbidít. Cieľom tejto práce bolo študovať účinky QCT na I/R poškodenie srdca a krvný tlak u 3-mesačných potkanov kmeňa SHR (z angl. Spontaneously Hypertensive Rat), teda v prítomnosti hypertenzie ako komorbidity ku samotnému I/R poškodeniu, čo reálnejšie odrzkadľuje stav pacientov s I/R poškodením srdca (napríklad akútnym infarktom myokardu), keďže títo často trpia pridruženými ochoreniami vrátane hypertenzie. Metodika: Dospelým (3-mesačným) SHR potkanom sme podávali QCT (20 mg/kg/deň orálne) počas 6-týždňov. V priebehu experimentu sme v pravidelných intervaloch zaznamenávali hmotnosť potkanov. Pletyzmografickou metódou sme merali krvný tlak pred začiatkom podávania QCT a po ukončení podávania QCT. Po ukončení podávania QCT sme izolovali srdcia a ex vivo indukovali 30-min ischemiu a 120-min reperfúziu

metódou podľa Langendorfa. Počas prvých 40 minút reperfúzie sme sledovali obnovu funkčných parametrov srdca a po ukončení reperfúzie sme stanovili veľkosť infarktu pomocou TTC farbenia.

Výsledky: Naše výsledky ukázali, že chronická aplikácia QCT nemala signifikantný vplyv na hodnotu funkčných parametrov srdca pred ischémiou (počas stabilizácie). QCT tiež nemal signifikantný vplyv na obnovu funkčných parametrov po ischémiu u SHR potkanov, avšak zaznamenali sme pozitívny trend u parametra LVDP (tlak vyvinutý ľavou komorou) a tiež trend nižšieho nárastu LVEDP po ischémiu u skupiny potkanov s podaným QCT. Napokon, pri hodnotení celkovej obnovy funkcie srdca po ischémiu sme zistili, že zatiaľ čo u QCT skupiny obnovili svoju funkciu všetky srdcia, u skupiny bez podania QCT 22% srdca (2 z 9) neobnovili svoju funkciu a prešli do trvalej fibrilácie. QCT taktiež nemal vplyv na hodnoty krvného tlaku potkanov počas celého experimentu. QCT signifikantne znížil prírastok telesnej hmotnosti u SHR-QCT skupiny v porovnaní s SHR skupinou počas celej doby experimentu.

Záver: Chronická aplikácia QCT môže viesť k zvýšeniu pravdepodobnosti obnovy funkcie srdca po ischémiu u hypertenzných subjektov. Naše výsledky však jednoznačne nepotvrdili kardioprotektívny účinok na hodnoty funkčných parametrov srdca po ischémiu ani na veľkosť infarktového ložiska. Možno teda konštatovať, že benefičný účinok QCT na srdce vystavené I/R v prítomnosti hypertenzie ako komorbidity je nejednoznačný.

Práca bola podporená grantmi: APVV-21-0194 a VEGA 2/0104/20

TELMISARTAN – LIGAND NUKLEÁRNÍCH RECEPTORŮ?

Dušek J.^{1,3}, Staňková P.¹, Peterová E.², Kamaraj R.³, Pávek P.³, Červinková Z.¹, Kučera O.¹

¹Ústav fyziologie, Lékařská fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova, Hradec Králové

²Ústav lékařské biochemie, Lékařská fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova, Hradec Králové

³Katedra farmakologie a Toxikologie, Farmaceutická fakulta, Univerzita Karlova, Hradec Králové

Telmisartan je léčivo ze skupiny antagonistů receptoru AT1 angiotensinu II, které se klinicky využívá při terapii arteriální hypertenze a kardiovaskulární prevenci. Studie ukazují, že telmisartan by mohl zvrátit poškození jater a rozvoj fibrózy u nealkoholové tukové nemoci jater.

PPAR γ (peroxisome proliferator- activated receptor γ) je nukleární receptor, který významně ovlivňuje metabolismus tuků a sacharidů a je cílem při terapii diabetes mellitus 2. typu léčivy ze skupiny thiazolidinedionů – tzv. glitazony.

Konstitutivní androstanový receptor (CAR) je nukleární receptor ze skupiny xenosenzorů, který je exprimován hlavně v játrech. Jeho aktivace vede zejména k upregulaci genové exprese enzymů účastnících se biotransformace endogenních látek a xenobiotik. Jde o enzymy 1. fáze metabolismu ze skupiny cytochromu P450 – CYP2B6, CYP3A4 a jiné. Cílové geny CAR rovněž ovlivňují metabolismus tuků a sacharidů, cholesterolu, žlučových kyselin, proliferaci, apoptózu a další významné fyziologické děje. CAR by mohl být potenciálním cílem terapie nealkoholové steatohepatitidy, neboť podle experimentálních studií může vést jeho aktivace k ochraně a obnově jater.

Cílem tohoto projektu je charakterizovat mechanismus aktivace vybraných nukleárních

receptorů telmisartanem a popsat efekt této aktivace s využitím moderních, sofistikovaných in vitro modelů. V dalším kroku bychom chtěli tyto účinky telmisartanu prokázat i v in vivo podmínkách.

Pomocí Reporter gene assay metody na buněčném modelu HepG2 a výsledků exprese mRNA (qRT-PCR) cílových genů CAR (Cyp2b10) na primárních kulturách izolovaných myších hepatocytů jsme dokázali, že telmisartan aktivuje oba nukleární receptory (PPAR γ i CAR) a ovlivňuje expresi jejich cílových genů. Interakci telmisartanu s CAR jsme rovněž ověřili in silico při dokovací studii s ligand vázající doménou lidského a myšičího CAR

Tento projekt je podpořen grantem INOMED CZ.02.1.01/0.0/0.0/18_069/0010046 spolufinancovaného Evropskou unií a programem Cooperatio Univerzity Karlovy.

OXID DUSNATÝ AKO JEDEN ZO SPŮŠŤACÍCH FAKTOROV KARDIOPROTEKTÍVNEHO ÚČINKU REMOTE ISCHEMICKÉHO PRECONDITIONINGU

*Farkašová V., Kindernay L., Lonek L., Ravingerová T.
Centrum experimentálnej medicíny SAV v.v.i., Bratislava*

Úvod: Mechanizmy ochrany indukované vzdialeným preconditioningom (RPC) predstavujú komplexnú kaskádu vedúcu od iniciálneho spúšťania vo vzdialenom tkanive, cez komunikácie medzi vzdialeným a cieľovým orgánom a konečných účinkov zodpovedných za indukciu ochranného fenotypu v cieľovom orgáne. K potenciálnym kandidátom na molekuly spúšťajúce RPC patrí okrem iného aj oxid dusnatý (NO).

Cieľ a metódy: Cieľom štúdie bolo preskúmať úlohu NO ako spúšťacej molekuly v kardioprotektívnom účinku RPC u samcov potkana kmeňa Wistar vo veku 3-4 mesiacov. NOS inhibítor L-NAME (60 mg/kg i.p.) bol aplikovaný potkanom 20 minút pred anestéziou s/bez indukcie RPC (RPC+L-NAME/C+L-NAME). Protokol RPC pozostával z troch cyklov 5 minútovoj oklúzie (ischémie) a 5 minútovoj reperfúzie zadnej končatiny prostredníctvom tlakovej manžety. Následne boli srdcia potkanov izolované a perfundované podľa Langendorffa a vystavené 20-min stabilizácii, 30-minútovoj globálnej ischémii a 120-minútovoj reperfúzii na vyhodnotenie postischemickej kontraktilnej dysfunkcie, reperfúzných arytmií a veľkosti infarktu myokardu.

Výsledky a záver: Obnova LVDP (% preischemických hodnôt) bola významne zvýšená u RPC zvierat v porovnaní s kontrolami (58,5 % \pm 5,8 vs. 38,1 % \pm 4,7; $p < 0,05$). Aplikácia L-NAME potlačila tento kardioprotektívny účinok RPC a obnovenie LVDP sa znížilo v skupine RPC+L-NAME (RPC+L-NAME 37,3 % \pm 6,8 vs. RPC 58,5 % \pm 5,8; $p < 0,05$) na úroveň pozorovanú v kontrolách. Podobne L-NAME inhiboval antiinfarktový účinok RPC. Podľa nášho pozorovania môžeme konštatovať, že molekuly NO hrajú úlohu pri spúšťaní kardioprotektívneho účinku RPC u potkanov kmeňa Wistar. Inhibícia spúšťacieho účinku NO viedla k neschopnosti ďalej prenášať signál zo vzdialeného orgánu do cieľového tkaniva/orgánu, čím bola potlačená potenciálna ochrana vyvolaná RPC.

Kľúčové slová: vzdialený preconditioning, kardioprotekcia, oxid dusnatý, L-NAME
Grantová podpora: APVV-19-0540, VEGA 2/0104/22.

VPLYV REAKTÍVNYCH FORIEM SÍRY NA DÝCHANIE MITOCHONDRIÍ PEČENE POTKANA

Grman M., Tomášová L., Mišák A., Ondriaš K.

Ústav klinického a translačného výskumu, Biomedicínske centrum SAV, v. v. i., Bratislava

Úvod: Sírovodík (H₂S) patrí spolu s oxidom dusnatým (NO) a oxidom uhoľnatým (CO) medzi plynné signálne molekuly produkované endogénne v ľudskom organizme špecifickými enzýmami. Sú to toxické plyny, ktoré podobne ako kyanid (CN⁻) inhibujú komplex IV respiračného reťazca mitochondrií – cytochróm c oxidázu. V nízkych koncentráciách však H₂S stimuluje bunkové dýchanie ako donor elektrónov prostredníctvom enzýmu sulfid-chinón oxidoreduktáza (SQR). V súčasnosti sa veľká pozornosť venuje bunkovej signalizácii sprostredkovanej aj oxidačnými produktami H₂S – persulfidmi a polysulfidmi, ktoré spolu so H₂S súhrnne označujeme ako reaktívne formy síry (RSS). Avšak úloha RSS v regulácii mitochondriálnych funkcií ostáva nejasná. Preto sme si ako cieľ stanovili preskúmať vplyv RSS na respiráciu mitochondrií izolovaných z pečene potkana.

Metódy: Potkany, samce kmeňa Wistar, boli uspaté jednorazovým i. p. podaním uretánu (1.5 g/mL). Mitochondrie boli izolované diferenciálnou centrifugáciou v izolačnom tlmivom roztoku (250 mM sachároza, 20 mM MOPS, 1 mM EGTA, ~KOH, pH 7.2, 4 °C). Respirácia izolovaných pečeneových mitochondrií bola meraná na prístroji Mitocell MT200A (Strahkelvin Instruments, UK) v respiračnom médiu pri 30 °C (0.5 mM EGTA, 3 mM MgCl₂, 60 mM kyselina laktobiónová, 20 mM taurín, 10 mM KH₂PO₄, 20 mM HEPES, 110 mM D-sacharóza, ~KOH, pH 7.1). Parametre dýchania sme analyzovali v nami vytvorenom templáte v programe MS Excel.

Výsledky: Vplyv RSS na izolované mitochondrie sme zmerali v prítomnosti a neprítomnosti substrátov 10 mM glutamátu a 5 mM malátu. Zistili sme, že v prítomnosti použitých substrátov dochádza pri vyšších koncentráciách H₂S/RSS k nižšej spotrebe kyslíka, čo je zapríčinené pravdepodobne rýchlejšou oxidáciou H₂S/RSS v energizovaných mitochondriách. V prítomnosti 2.5 mM ADP vykazovali použité donory podobný efekt, koncentrácia 5 μM H₂S/RSS mala iba zanedbateľný vplyv na rýchlosť oxidačnej fosforylácie, avšak koncentrácie > 10 μM spôsobili reverzibilnú inhibíciu mitochondriálnej respirácie.

Záver: Prezentované výsledky naznačujú podobný mechanizmus RSS na respiráciu mitochondrií ako samotný H₂S. Ukazuje sa však, že v neenergizovaných mitochondriách majú zložitejšie RSS menej toxický efekt v porovnaní so samotným H₂S, a to najmä pri viacnásobnej aplikácii. Naše merania tak môžu prispieť k lepšiemu pochopeniu úlohy sírovodíka a iných RSS ako potenciálnych substrátov pre dýchanie mitochondrií.

Táto práca bola podporená projektami APVV-19-0154, VEGA/2/0079/19, VEGA/2/0091/21 a VEGA/2/0066/23.

ÚČINOK GABA NEUROTRANSMITERA NA RAST A MORFOLÓGIU NEURONÁLNYCH BUNIEK

Havránek T.^{1,2}, Gyönyörová S.^{1,3}, Bačová Z.¹, Bakoš J.^{1,2}

¹Ústav experimentálnej endokrinológie, Biomedicínske centrum SAV v.v.i., Bratislava

²Lekárska fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava

³Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava

Úvod: Účinok kyseliny Gama-amino maslovej (GABA) v centrálnom nervovom systéme je sprostredkovaný rôznymi subtypmi ionotropných a metabotropných GABA receptorov (GABA-R) lokalizovaných na postsynaptickej membráne. Hoci na maturovanom neuróne predstavuje GABA hlavný inhibičný neurotransmitter, predpokladá sa, že aktivácia GABA receptora v ranných štádiách formovania neuronálnej siete v CNS vedie k depolarizácii plazmatickej membrány, čo má za následok stimuláciu rastu neuritov a ovplyvnenie synaptogenézy.

Ciele: V našej štúdií charakterizujeme skladbu jednotlivých typov GABA receptorov na bunkovej membráne; analyzujeme vplyv GABA na proliferáciu a morfológické zmeny buniek; ako aj vyplavovanie vnútrobunkového vápnika na modeli myšacích embryonálnych hipokampálnych neurónov (mHippoE-2).

Materiál a metódy: Bunky (mHippoE-2) boli inkubované v prítomnosti GABA (50, 100, 500 a 1 000 nM) po dobu 24 a 48 hodín. Viabilita buniek bola meraná prostredníctvom MTT testu; dĺžka neuritov bola hodnotená prostredníctvom fluorescenčnej mikroskopie. Zastúpenie a distribúcia jednotlivých subtypov GABA receptorov bola analyzovaná qPCR; zmena v koncentrácií vnútrobunkového vápnika bola meraná prostredníctvom FURA2/AM.

Výsledky: Prítomnosť GABA v kultivačnom médiu (24 aj 48 hodín) signifikantne znižuje viabilitu E2 buniek. Účinok najvyššej sledovanej koncentrácie GABA sa prejavil inhibíciou rastu neuritov len po 24 hodinovej inkubácii. Podanie GABA vo všetkých analyzovaných koncentráciách viedlo k akútnemu zvýšeniu vnútrobunkového vápnika. Analýza zastúpenia a prítomnosti jednotlivých subtypov GABA receptora na bunkovej membráne potvrdila expresiu niektorých ionotropných GABA receptorov, expresia metabotropného receptora sa na membráne nepotvrdila.

Záver: Stimulačný proliferačný účinok sprostredkovaný GABA receptorom sme na modeli myšacích embryonálnych hipokampálnych neurónov (mHippoE-2) nepotvrdili. Zvýšenie vnútrobunkového vápnika sa neprejavilo predĺžením neuritov. Výsledky poukazujú na skutočnosť, že použité hipokampálne neuronálne bunky vykazujú vlastnosti už maturovaných neurónov.

Práca bola podporená grantami APVV-21-0189, APVV-20-0114, VEGA 2/0148/21.

VPLYV TLMENÉHO SVETLA POČAS NOCI NA POČET A AKTIVITU IMUNITNÝCH BUNIEK V CIRKULÁCII A OBLIČKÁCH POČAS FRUKTÓZOU-INDUKOVANEJ METABOLICKEJ ZÁŤAŽE

Jerigová V., Rumanova V.S., Zeman M., Okuliarová M.

Katedra živočíšnej fyziológie a etológie, Prírodovedecká fakulta UK, Bratislava

Úvod: Naše predchádzajúce výsledky ukázali, že vystavenie svetlu počas noci (ALAN)

narušilo denný profil leukocytov (Le) a neutrofilov (Ne) v cirkulácii za fyziologických aj zápalových podmienok. Vzhľadom na to, že metabolické ochorenia sú sprevádzané zmenami na úrovni imunitného systému v predkladanej práci sme testovali hypotézu, že vystavenie ALAN môže amplifikovať imunitné zmeny pri zvýšenej metabolickej záťaži indukovanej príjmom fruktózy (FRU).

Metodika: Wistar potkany boli rozdelené na kontrolnú (LD) skupinu s režimom svetlo:tma 12:12 h (L ~150 lux; D = 0 lux) a skupinu vystavenú ALAN (L ~150 lux; D ~2 lux). V priebehu experimentu potkany dostávali čistú vodu alebo roztok s obsahom 10% FRU. Po deviatich týždňoch experimentu sme na začiatku pasívnej (ZT2, ZT0 = začiatok svetlej fázy) alebo aktívnej fázy (ZT14) dňa v krvi potkanov pomocou prietokovej cytometrie analyzovali počet jednotlivých populácií Le a funkčnú aktivitu Ne. Po desiatich týždňoch boli zvieratá dekapitované v ZT6 alebo v ZT18 a boli im odobraté obličky, v ktorých sme pomocou imunofluorescencie analyzovali markery makrofágov (CD68) a Ne (myeloperoxidázu, MPO).

Výsledky: Bez ohľadu na príjem FRU expozícia ALAN znížila počet cirkulujúcich Ne a indukovala trend k zníženiu bazálnej produkcie reaktívnych foriem kyslíka (ROS) v Ne v ZT14, čo môže znamenať posunutý denný rytmus týchto parametrov. V ZT2 FRU znížila bazálnu produkciu ROS v LD skupine, ale nemala vplyv na bazálnu produkciu ROS u ALAN potkanov. Na druhej strane FRU neovplyvnila oxidačné vzplanutie v ZT2 u zvierat chovaných na LD, avšak u zvierat exponovaných ALAN mala FRU tendenciu potlačiť indukovanú tvorbu ROS. V ZT14 FRU potlačila bazálnu aj indukovanú produkciu ROS. ALAN režim zvýšil relatívnu hmotnosť obličiek potkanov, ktorí prijímali FRU, čo môže naznačovať poškodenie spojené so zápalovými zmenami. V renálnej kôre sme však nezaznamenali zmeny v počte CD68+ a MPO+ buniek. Fruktózou-indukovaná metabolická záťaž ani dlhodobá ALAN expozícia neovplyvnili dennú variabilitu v počte cirkulujúcich Le.

Záver: Vystavenie ALAN neovplyvnilo imunitné zmeny indukované FRU, ALAN však znížil počet cirkulujúcich Ne špecificky na začiatku aktívnej fázy dňa bez ohľadu na príjem FRU. Vzhľadom na to, že metabolizmus a aktivita Ne sú závislé predovšetkým na glukóze, znížená schopnosť Ne produkovať voľné radikály pri FRU-indukovanej metabolickej záťaži môže oslabiť ich schopnosť odstraňovať patogény.

Podporené grantmi APVV-21-0223 a VEGA 1/0565/22.

ÚČINNOSŤ KOMBINOVANEJ TERAPIE EXOGÉNNYM SURFAKTANTOM S INTRAVENÓZNE PODANÝM N-ACETYLCYSTEÍNOM V ARDS MODELI DVOJITÉHO POŠKODENIA PĽÚC U POTKANOV

Kolomazník M., Hanusrichterová J., Mikolka P, Košútová P., Vatecha M., Mokrý D., Čalkovská A.

Martinské centrum pre biomedicínu a Ústav fyziológie, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave, Martin

Úvod: Dlhodobá hyperoxia a následná tvorba reaktívnych foriem kyslíka počas umelej ventilácie vedie k akútnemu zápalu a poškodeniu alebo smrti buniek pľúcneho tkaniva, čo je sprevádzané zvýšenými hladinami prozápalových cytokínov a nadmernou akumuláciou leukocytov v pľúcach. V dôsledku uvedených zmien sa pľúcne tkanivo stáva náchylnejším na sekundárnu bakteriálnu infekciu. Endogénne antioxidantné

mechanizmy, ktorých funkciou je znižovanie účinku reaktívnych foriem kyslíka, môžu byť posilnené antioxidantmi ako je N-acetylcysteín (NAC) a/alebo surfaktantovými preparátmi. Cieľom štúdie bolo porovnať účinnosť podania NAC s kombinovaným podaním exogénneho surfaktantu a NAC v modeli ARDS vyvolanom dvojším poškodením pľúc u potkanov.

Metodika: Dospelé potkany (Wistar ♂, $n=32$, 330 ± 20 g) boli umelo ventilované: frekvencia dýchania 60/min, inspiračný čas 40 %, dychový objem 6 ml/kg. Kontrolná skupina dostala fyziologický roztok (2,2 ml/kg) a bola ventilovaná frakciou inspirovaného kyslíka (FiO₂) 0,4. Ďalšie 3 skupiny boli ventilované FiO₂ 1,0; po 15 minútach bola vyvolaná bakteriálna infekcia intratracheálnym podaním lipopolysacharidu (LPS; 500 µg/kg; 1,25 ml/kg; E.coli, O55:B5) (ARDS skupina). Liečeným zvieratám bol intravenózne podaný NAC (10 mg/kg) (NAC skupina) alebo NAC v kombinácii s exogénnym surfaktantom (Poractant alfa, 50 mgPL/kg) (PSUR+NAC skupina). Ventiláčne parametre (PaO₂/FiO₂ - P/F ratio; index účinnosti ventilácie - VEI; index oxygenácie - OI; dynamická poddajnosť pľúc - C_{dyn}) boli hodnotené každú hodinu. Po 4 hodinách ventilácie sme vyhodnotili zápalové markery (inkerleukín (IL)-1β, IL-6, TNF-α), oxidačné poškodenie (AOPP, MDA, TAC), celkový počet leukocytov, pľúcny edém (W/D).

Výsledky: V porovnaní s kontrolnou skupinou, hyperoxia a LPS zvýšili hladiny markerov zápalu a oxidačného poškodenia v pľúcnom tkanive, tvorbu pľúcneho edému, zvýšili OI a znížili TAC, P/F, VEI, C_{dyn} a celkový počet leukocytov v krvi. Podanie NAC zvýšilo TAC, P/F, VEI, C_{dyn} a znížilo IL-6 a W/D. Tento účinok bol zosilnený po podaní exogénneho surfaktantu a NAC, keď kombinovaná liečba navyše ovplyvnila OI, MDA, AOPP, IL-1β a TNF-α. Kombinácia PSUR+NAC zlepšila aj TNF-α, IL-1β a TAC v porovnaní s NAC.

Záver: Poškodenie pľúc vyvolané LPS a hyperoxiou môže slúžiť ako klinicky relevantný model na štúdium patofyziológie a terapie ARDS. I napriek vysokej účinnosti NAC nedokáže úplne obnoviť zmeny súvisiace s akútnym poškodením pľúc. Jeho antioxidantné a protizápalové účinky však môžu svojim pozitívnym vplyvom na alveolárne mikroprostredie potencovať účinok exogénneho surfaktantu.

Práca bola podporená grantom APVV-17-0250, VEGA 1/0004/21, VEGA 1/0097/23.

HORMÓNY ŠTÍTNEJ ŽLÁZY AKO KORELÁT JADROVÝCH PRÍZNAKOV U DETÍ S PORUCHAMI AUTISTICKÉHO SPEKTRA

*Kopčíková M., Rašková B., Belica I., Celušáková H., Ostatníková D.
Institute of Physiology, Faculty of Medicine, Comenius University, Bratislava*

Úvod: Poruchy autistického spektra (PAS) patria medzi neurovývinové poruchy, ktoré charakterizuje narušená sociálna interakcia a komunikácia, reštriktívne a repetitívne vzorce správania, záujmy a aktivity. Len nízky počet štúdií skúmal potenciálnu súvislosť medzi funkciou štítnej žľazy a PAS. Je známe, že hormón stimulujúci štítnu žľazu (TSH) ovplyvňuje metabolizmus testosterónu prostredníctvom zmeny hladín globulínov viazucich pohlavné hormóny, ktoré menia hladiny voľného a viazaného testosterónu, ktorý sa niekedy spája s PAS. Zistilo sa tiež, že znížená koncentrácia TSH bola spojená so zvýšenou mierou príznakov PAS podľa ADOS. U chlapcov s PAS sa zistila signifikantne slabšia odpoveď TSH na hormón uvoľňujúci tyreotropín (TRH) než v kontrolnej skupine. Cieľom nášho výskumu bolo sledovať vzťah medzi sérovými hladinami TSH, hormónov štítnej žľazy (fT₃, fT₄) a mierou závažnosti príznakov PAS.

Metodika: Výskumný súbor tvorilo 46 detí (34 chlapcov) s PAS, s priemerným vekom 2,89 roku (2,13-3,52; SD = 0,42). Všetky deti boli neverbálne alebo používali len niekoľko izolovaných slov. Na stanovenie diagnózy PAS a závažnosti jadrových príznakov PAS sme použili dva diagnostické nástroje - Autism Diagnostic Observation Schedule (ADOS-2) určený na priame pozorovanie dieťaťa a Autism Diagnostic Interview-Revised (ADI-R), ktorý je pološtruktúrovaným rozhovorom s rodičmi. V sére boli stanovené koncentrácie tyreotropného hormónu (TSH), voľného trijódtyronínu (fT3) a tyroxínu (fT4). Pomocou korelácií sme sledovali vzťah medzi závažnosťou príznakov a uvedených hormónov.

Výsledky: Koncentrácia s-TSH negatívne korelovala s mierou narušenia sociálnej interakcie ($p = 0,019$, $r = -0,345$) a narušenia komunikácie ($p = 0,023$, $r = -0,334$) podľa ADI-R. Pokles koncentrácie s-TSH tak bol spojený s nárastom závažnosti uvedených príznakov. Nepreukázal sa vzťah medzi s-TSH a stereotypným správaním. Nepreukázal sa vzťah medzi s-TSH, fT3 a fT4 navzájom.

Záver: Naše výsledky podporujú možnú súvislosť medzi koncentráciou TSH a niektorými príznakmi PAS. Spracované výsledky menšej vzorky detí s PAS sú predbežné a v krátkej budúcnosti plánujeme pokračovať na väčšej vzorke. Tiež plánujeme výsledky detí s PAS porovnať s výsledkami detí z kontrolnej skupiny.

VALIDÁCIA KLINICKY RELEVANTNÉHO ZÁVAŽNÉHO POŠKODENIA PĽÚC U ZVIERAT INDUKOVANÉHO ASPIRÁCIOU KYSELINY S NÁSLEDNOU VYSOKOOBJEMOVOU VENTILÁCIOU POMOCOU ZÁPALOVÝCH A RESPIRAČNÝCH PARAMETROCH

Kosutova P.¹, Kolomaznik M.¹, Calkovska A.², Mikolka P.^{1,2}

¹Martinské centrum pre biomedicínu, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Komenského Univerzita v Bratislave, Martin

²Ústav fyziológie, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Komenského Univerzita v Bratislave, Martin

Úvod: Syndróm akútnej respiračnej tiesne (ARDS) je život ohrozujúci stav, ktorý sa klinicky prejavuje výraznou hypoxémiou a respiračnou tiesnou; stav pacientov často progreduje do respiračného zlyhania s pľúcnym edémom, ktorý si vyžaduje invazívnu umelú pľúcnu ventiláciu. Na etiológii ARDS sa podieľa viacero procesov vrátane oxidačného stresu a zápalu. Oxidačný stres, môže vyvolať poškodenie buniek, čo vedie k bunkám sprostredkovanému nahromadeniu prozápalových cytokínov a difúznemu poškodeniu pľúc. Cieľom štúdie bolo vytvoriť stabilný klinicky relevantný experimentálny model so závažnou formou ARDS. Porovnávali sme vplyv samotnej aspirácie kyseliny chlorovodíkovej (HCl) s rôznymi objemami (3ml/kg a 6ml/kg) a kombináciu aspirácie HCl s poškodením pľúc indukovaným ventilátorom (VILI) ako dvojité inzulť na zápalové procesy a pľúcne funkcie.

Metodika: Dospelé Novozélandské králiky s hmotnosťou $2,3 \pm 0,3$ kg b. w. boli ventilované (Aura V, Chirana, Slovensko) s PEEP 2 cm H₂O, dychový objem (VT) < 6 ml/kg b. w., I:E 2:3, RR 40 bpm a FiO₂ 1.0. Zvieratá boli náhodne rozdelené do 4 skupín. Kontrolnú skupinu (Saline, n=9) tvorili zdravé zvieratá, ktorým bol intratracheálne podaný fyziologický roztok (3ml/kg b. w.). Druhá skupinu (1-hit 3.0, n=7) tvorili zvieratá, ktorým bola intratracheálne podaná HCl (3 ml/kg b. w., pH 1,25). Tretiu skupinu (1-hit 6.0, n=7) tvorili zvieratá, ktorým bola intratracheálne podaná HCl (6 ml/kg pH 1,25).

Poslednú skupinu (2-hit, n=13) tvorili zvieratá, ktorým bola intratracheálne podaná HCl (3 ml/kg b. w., pH 1,25) s následnou ventiláciou s vysokými dychovými objemami na indukovanie VILI s VT 20 ml/kg, nulový PEEP, RR 20-30 bpm, I:E 1:2 a FiO2 1.0. Krvné plyny a respiračné parametre, sa zaznamenali 15 a 30 minút a 1, 2, 3, 4 hodiny po splnení kritérií pre poškodenie pľúc P/F pomer pod < 200 cm H2O. Parametre výmeny dýchacích plynov a acidobázickej rovnováhy sa merali zo vzoriek arteriálnej krvi pomocou analyzátoru krvných plynov (RapidLab TM348, Bayer Diagnostics, Nemecko). Respiračné parametre boli merané pomocou vstavaných senzorov a softvéru ventilátora Aura V, alebo počítané ako: P/F = pomer parciálneho tlaku arteriálneho kyslíka (PaO2) a podielu vdychovaného kyslíka (FiO2); index oxygenácie (OI) = (stredný tlak v dýchacích cestách x FiO2)/PaO2. Post-mortem boli kvantifikované hladiny TNF α , IL-1 β , -6 a -8 v plazme a bronchoalveolárnej lavážnej tekutine (BALF) s použitím ELISA kitov. Rozsah pľúcneho edému sme stanovili z pomeru hmotnosti mokrých a suchých pľúc (W/D). Výsledky: V skupine 2-hit (HCl+VILI) sme pozorovali signifikantné zhoršenie všetkých sledovaných respiračných parametrov (pomer P/F, OI) v porovnaní s kontrolou. Podobne no nie natoľko významné zhoršenie bolo pozorované aj v skupine zvierat 1-hit 6.0. Pri analýze zápalového profilu, len v skupine 2-hit (HCl+VILI) sme pozorovali signifikantne zvýšené hladiny zápalových cytokínov (TNF α , IL-1 β , -6 a -8) v plazme aj v BALF oproti kontrole. Intratracheálne podanie samotnej HCl nemalo na zápal takýto vplyv, ako kombinácia 2 inzultov. W/D pomer, predstavujúci vznik pľúcneho edému bol signifikantne zvýšený v skupine 2-hit a v skupine 1-hit 6.0 oproti kontrole. Závery: Aspirácia HCl v kombinácii s vysokoobjemovou ventiláciou viedla k signifikantnému zhoršeniu nami sledovaných parametrov poškodenia pľúc, čo môže zodpovedať klinicky závažnej forme ARDS. Granty: VEGA 1/0004/21

REDUKCIA KRÁTKOVLNOVÉHO SVETLA POČAS DŇA NEOVPLYVNILA KONCENTRÁCIU MELATONÍNU U ČLOVEKA

*Kováčová K., Stebelová K., Hanuliak P., Hartman P., Vargová A., Hraška J.
Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Bratislava*

Úvod: Cirkadiánný systém stavovcov je regulovaný hlavne prostredníctvom vnútorne fotosenzitívnych buniek sietnice, ktoré sú najcitlivejšie na svetlo s krátkou vlnovou dĺžkou – modré svetlo. Nevizuálne účinky svetla počas dňa sú dôležité pre správne synchronizovanie cirkadiálneho systému. Cieľom našej práce bolo zistiť, či prostredie s redukovaným prirodzeným svetlom v modrej a zelenej oblasti svetelného spektra počas dňa, bude mať vplyv na nástup sekrécie hormónu melatonínu a tvorbu melatonínu hodnotenú prostredníctvom koncentrácie metabolitu melatonínu – 6-sulfatoxymelatonínu v moči. Metodika: Štúdie sa zúčastnilo 22 probandov. Štúdia prebiehala počas 5 kontrolných dní – referenčný týždeň a 5 dní so zmenenými svetelnými podmienkami – experimentálny týždeň. Štúdia prebiehala v dvoch stavebne rovnakých miestnostiach, v ktorých trávili probandi čas od 8:00 do 16:00 hodiny počas pracovných dní. Probandi sedeli v referenčnej aj experimentálnej miestnosti vždy na rovnakej pozícii. V referenčnej miestnosti boli probandi v prostredí s plným prístupom prirodzeného svetla. V experimentálnej miestnosti boli okná aj svetlené zdroje prekryté oranžovou fóliou (ORANGE 50 UV; Keetecfol), ktorá odfiltrovala svetelné

spektrum s vlnovou dĺžkou do 500 nm. Každý večer odovzdávali probandi tri vzorky slín v hodinových intervaloch, poslednú tesne pred spánkom. Následne ráno probandi odovzdávali prvý ranný moč a druhý a tretí moč v poradí. Koncentrácia melatonínu v slinách a 6-sulfatoxymelatonínu v moči boli merané ELISA metódou. Koncentrácie 6-sulfatoxymelatonínu boli normalizované na kreatinín.

Výsledky: Redukcia krátkovlnového svetelného spektra počas dňa nespôsobilá signifikantné zmeny v hladinách melatonínu vo večerných vzorkách slín ani v koncentracii 6-sulfatoxymelatonínu v rannom moči. Probandi, ktorí sedeli počas štúdie pri oknách boli exponovaní vyššej intenzite svetla v porovnaní s probandami sediacimi hlbšie v miestnosti, preto sme výsledky hodnotili aj podľa pozície probanda. Rozdielna intenzita svetla v miestnosti nemala signifikantný vplyv na koncentrácie melatonínu ani 6-sulfatoxymelatonínu v porovnaní s referenčnými podmienkami.

Záver: Pobyť v prostredí s významne modifikovaným krátkovlnovým svetelným spektrom počas dňa nevedol ku zmenám v koncentracii melatonínu. Aj napriek dlhodobej absencii modrého svetelného spektra v prostredí sa ľudský organizmus s touto zmenou dokázal vysporiadať na úrovni produkcie melatonínu. Vzhľadom na interindividuálnu variabilitu v koncentráciách melatonínu a odlišnú citlivosť ľudí na svetlo je potrebné venovať pozornosť tejto problematike aj na úrovni svetelnej expozície jednotlivca.

Práca bola podporená grantmi APVV-18-0174 a APVV-21-0164.

EFFECT OF FECAL MICROBIAL TRANSPLANTATION ON EARLY NEUROMOTOR DEVELOPMENT IN THE GENETIC MOUSE MODEL OF AUTISM

Kováčová N., Szabó J., Jančovičová A., Koritková D., Antal M., Borbélyová V., Celec P., Tomová A.

Institute of Molecular Biomedicine, Faculty of Medicine, Comenius University, Bratislava

Introduction: Autistic children are more likely to be diagnosed with a neurodevelopmental delay, and previous experiments with genetic mouse models of autism also showed deficient neuromotor development. Autistic children suffer from co-occurring gastrointestinal problems. Recent findings point to a possible link between autism and the gut microbiome, but the role of gut microbiota in the pathogenesis of autism is not completely understood. Current research suggests that maternal microbiome dysbiosis together with the genetic predisposition can lead to abnormal neurological development associated with the autistic phenotype of the offspring. However, experimental evidence is still lacking. Therefore, this study aims to compare the early neuromotor development of the Shank3B^{-/-} and Wild-type (WT) mice prenatally exposed to the fetal microbiome transplanted from autistic patients (ASD FMT) or neurotypical controls (CTRL FMT).

Methods: The offspring prenatally exposed to autistic (females: n=10, males: n=9) or neurotypical (females: n=7, males: n=15) FMT were tested in a battery of behavioral tests for the evaluation of early neuromotor reflexes (forelimb grasp, forelimb placing, auditory startle, and tactile startle) and motor skills (gait, walking initiation, surface righting, and air righting). In addition, morphological development (opening of the auditory canal, the eruption of incisors, or opening of the eyes) was also assessed from postnatal day 1 to 21.

Results: While Shank3B^{-/-} males exposed to FMT from both, autistic and neurotypical patients, had lower body weight than WT males ($p < 0.05$), the body weight of Shank3B^{-/-} females exposed to both types of FMT did not differ from that of control females. Shank3B^{-/-} mice exposed to ASD FMT showed a 2-day delay in limb grasping compared to CTRL FMT mice ($p < 0.05$). Similarly, in WT mice, a 2-day delay in limb grasping was observed in ASD FMT mice in comparison to CTRL FMT mice ($p < 0.05$). There were no significant differences in any of the observed parameters of neuromotor reflexes, motor skills, and morphological development between groups.

Discussion: The results of this study show that FMT from both autistic and neurotypical patients affects the body weight and limb grasp of mice regardless of sex. The lack of significant differences in other observed parameters could be caused by a small number of mice per treatment group. To the best of our knowledge, this is the first study investigating early neurodevelopmental deficits in the Shank3 mouse model of autism prenatally exposed to FMT from autistic or neurotypical patients. Future studies should examine a possible link between maternal gut dysbiosis-induced neurodevelopmental delay and core autistic phenotype later in life.

This study was supported by the APVV grant no. APVV-20-0114.

ÚLOHA NEURONŮ NEUSOUCÍCH MTOR MUTACI V IKTOGENEZI NA PODKLADĚ FOKÁLNÍ KORTIKÁLNÍ DYSPLÁZIE

Králíková M.¹, Kylarová S.¹, Kudláček J.¹, Weissová R.², Procházková N.¹, Balaščík M.², Novák O.¹, Jiruška P.¹

¹2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Praha

²Fyziologický ústav Akademie věd České republiky, Praha

Motivace: Fokální kortikální dysplazie (FCD) je jednou z hlavních příčin farmakorezistentní epilepsie. Molekulárním substrátem FCD jsou mutace v mTOR signálních kaskádě, které narušují proliferaci, diferenciaci a migraci neuronů v průběhu vývoje mozku. Mechanismy endogenní epileptogenicity FCD však nejsou doposud známy. Předpokládá se, že to jsou právě neurony nesoucí mTOR mutaci, které se primárně podílejí na vzniku záchvatů. V této studii jsme tuto hypotézu experimentálně ověřili s využitím optogenetických a chemogenetických technik.

Metody: FCD léze byla vytvořena in utero elektroporací mutantního mTOR (p.Leu2427Pro) genu u myši v embryonálním dni E14,5. Kontrolním myším byl elektroporován normální mTOR plazmid. Osm týdnů po narození bylo myším implantováno kraniální okno společně s epidurálními elektrodami do FCD léze a kontralaterální homotopické oblasti. Následně byl do oblasti FCD léze injikován AAV vektor obsahující cDNA Channelrodopsinu-2 (ChR2) nebo hM4Di receptoru. Spontánně záchvatujícím myším exprimujícím hM4Di receptor byl denně podáván intramuskulárně deschlorozapin (DCZ, 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$), nebo fyziologický roztok.

Výsledky: Aktivace mutovaných neuronů exprimujících ChR2 jednotlivými světelnými stimuly (470 nm) vyvolala v EEG evokovanou odpověď. Série stimulů o frekvencích 3, 8 nebo 20 Hz vyvolala záchvaty u 80 % FCD myší, přičemž nejúčinnější byla stimulace o frekvenci 8 Hz. Stimulace světlem o vlnové délce 590 nm a stimulace zvířat bez ChR2 nevyvolaly žádnou odpověď v EEG. U kontrolních zvířat aktivace ChR2 vyvolala evokované odpovědi, avšak nespustila záchvaty. Dlouhodobé potlačení aktivity

mutovaných neuronů pomocí chemogenetické modulace vedlo k mírnému snížení četnosti záchvatů.

Závěr: Naše práce prokázala, že populace neuronů nesoucí mutovaný mTOR je funkčně propojena s ostatními neurony v FCD síti. Získaná data potvrzují, že mutované neurony velmi pravděpodobně hrají kauzální roli v iniciaci záchvatů v rámci epilepsie na podkladě FCD. Mírný účinek chemogenetického ovlivnění mutovaných neuronů je zřejmě způsoben omezenou prostorovou expresí hM4Di receptoru v FCD lézi.

Podpořeno granty Agentury pro zdravotnický výzkum Ministerstva zdravotnictví České republiky (NU21-08-00533, NU21-04-00601) a Grantové agentury České Republiky (20-25298S, 21-17564S).

IDENTIFIKÁCIA JEDINCŮ S MOŽNOU PREDISPOZÍCIÍ K HYPERTENZII NA ZÁKLADĚ SKRÍNINGU ZMIEN TLAKU KRVI ZA BAZÁLNÝCH PODMIENOK, V PRIEBEHU A PO SKONČENÍ ERGOMETRICKÉHO VYŠETRENIA

Martišková A.¹, Bartošová M.², Waczulíková I.³, Szeiffová Bačová B.¹, Tribulová N.¹

¹CEM SAV, v.v.i., Ústav pre výskum srdca, Bratislava

²Oddelenie telovýchovného lekárstva, UNB, Nemocnica Staré Mesto, Bratislava

³Katedra jadrovej fyziky a biofyziky, FMFI UK, Bratislava

Úvod: Incidencia hypertenzie, dominantného rizikového faktora kardiovaskulárnych ochorení celosvetovo stúpa a v dôsledku nezdravého životného štýlu sa posúva do mladšej vekovej kategórie. Preto je potrebné venovať pozornosť odhaleniu jedincov s predispozíciou k hypertenzii už u mladých dospelých. Jedným z ukazovateľov možnej incidence hypertenzie v budúcnosti je pomalší pokles tlaku krvi vo fáze zotavenia po ergometrickom vyšetrení. Cieľom štúdie bolo zistiť, či sa v sledovanom súbore 18 – 30 ročných probandov odhalia klinicky relevantné zmeny tlaku krvi za bazálnych podmienok, v priebehu a po skončení ergometrického vyšetrenia, ako aj charakterizovať ich možný vzťah k pohlaviu, antropometrickým parametrom a životnému štýlu.

Metodika: Zber dát bol realizovaný na Oddelení telovýchovného lekárstva Univerzitnej nemocnice Bratislava. Probandi absolvovali vstupnú prehliadku, ktorej súčasťou bolo meranie bazálneho tlaku krvi a srdcovej frekvencie, pokojové EKG vyšetrenie v ľahu, ako aj meranie vybraných antropometrických parametrov. Následne probandi absolvovali záťažové vyšetrenie na bicyklovom ergometri, počas ktorého kontinuálne prebiehalo meranie tlaku krvi a EKG záznam. Vyšetrenie bolo ukončené po dosiahnutí subjektívneho maxima záťaže. Faktory životného štýlu, ktoré môžu prispievať k vzniku kardiovaskulárnych ochorení boli sledované dotazníkovou formou.

Výsledky: V súbore 67 probandov bolo zistené klinicky relevantné zvýšenie systolického tlaku krvi za bazálnych podmienok u 7 probandov mužského pohlavia. V sledovanom súbore sa nevyskytli klinicky relevantné zmeny diastolického tlaku krvi ani srdcovej frekvencie za bazálnych podmienok. U 10 probandov mužského pohlavia bol zistený pomalší pokles systolického tlaku krvi vo fáze zotavenia po záťaži. Takýto jav môže naznačovať predispozíciu k hypertenzii. Mužské pohlavie bolo v našej štúdii dominantným rizikovým faktorom. V súvislosti so životným štýlom sme zistili trend k signifikantnosti v rozdieloch BMI medzi skupinami s pomalším poklesom tlaku krvi vo fáze zotavenia a s primeraným poklesom tlaku krvi vo fáze zotavenia.

Záver: Výsledky štúdie evokujú potrebu prospektívneho sledovania rizikových jedincov. Pozitívnym zistením štúdie je skutočnosť, že sledovaní probandi boli prevažne fyzicky aktívni a mali zdravý životný štýl.
Práca bola podporená grantmi APVV-21-0410, VEGA 2/0006/23 a KEGA 041UK-4/2020.

CHORIOALANTOICKÁ MEMBRÁNA PREPELICE JAPONSKEJ AKO IN VIVO MODEL MIKROBIÁLNEJ INFEKČIE

Meta M., Bilčík B., Čavarga I., Balážová M., Máčajová M.
Ústav biochémie a genetiky živočíchov, Centrum biovied, SAV v.v.i., Bratislava

Úvod: Kvasinky patria do skupiny pomerne heterogénnych eukaryotických organizmov, ktoré sú príčinou rôznych infekčných ochorení. Kvasinky z rodu *Saccharomyces* sú známe najmä pre svoje využitie v potravinárskom a farmaceutickom priemysle. Hoci sú v prírode široko rozšírené a vykazujú nízku virulenciu voči ľuďom, invazívne infekcie *S. cerevisiae* sú čoraz bežnejšie a boli identifikované v približne 4% pozitívnych mykotických hemokultúr, najmä u imunokompromitovaných jedincov. Na testovanie mechanizmov patogenity mikróbov sa ukazuje byť vhodný in vivo model vtáčej chorioalantoickej membrány (CAM). CAM je relatívne jednoduchý, rýchly a nízko nákladový model, ktorý umožňuje skrining veľkého množstva farmakologických vzoriek v krátkom čase. Jeho najväčšou výhodou je viditeľnosť, dostupnosť a rýchly rast počas vývinu embrya. CAM model sa používa na skúmanie základov inváznej kapacity a penetrácie patogénov cez membránu, na predbežný skrining patogenity mikróbov, genetickej regulácie infekcie a ochranných účinkov antimikrobiálnych látok.

Metodika: Ako experimentálny model bola použitá ex ovo metóda kultivácie CAM prepelice japonskej. Na embryonálny deň (ED) 8 sme do silikónových krúžkov ($\varnothing 10$ mm) na povrchu CAM inokulovali dve rôzne koncentrácie kvasiniek *S. cerevisiae*: A) $3,6 \times 10^7$ /CAM; B) $6,2 \times 10^6$ /CAM, riedených buď v YPD médiu alebo extracelulárnej proteínovej zmesi Cultrex® (Bio-technie, USA) v objeme 80 μ l. Po 48 h na ED10 sme CAM fotografovali v bielom svetle a z fotografií vyhodnocovali cievné parametre. Na histologické vyhodnotenie bolo tkanivo CAM fixované 4% paraformaldehydrom, spracované na 5 μ m hrubé parafínové rezy a farbené hematoxylínom a eozínom. Stanovovali sme aj expresiu génov zápalových cytokínov IL-6, IL-8 a IFN- α pomocou qPCR.

Výsledky: Na fotografiách CAM robených v bielom svetle sme pozorovali, že 48 h od inokulácie *S. cerevisiae* sa na povrchu CAM objavujú biele zhluky, ktoré atrahujú okolité kapiláry. Výraznejšie biele zhluky boli v prípade kvasiniek riedených s Cultrex® v porovnaní s kvasinkami riedenými s YPD médiom, rovnako ako v prípade vyššej koncentrácie kvasiniek ($3,6 \times 10^7$) v porovnaní s nižšou ($6,2 \times 10^6$). Podobné výsledky potvrdila aj molekulárna analýza pomocou qPCR, najmä v prípade génu IL-6, ktorého hladiny vykazujú zvýšený trend v skupinách, kde boli podané *S. cerevisiae* v YPD médiu. IL-8 bol upregulovaný v skupinách s nižšou koncentráciou *S. cerevisiae*.

Záver: Inokulácia kolónií *S. cerevisiae* na povrch CAM vedie k proliferácii a rastu kvasiniek už po 48 h. Ďalej dochádza k pridruženej zápalovej reakcii a viditeľným zmenám štruktúry tkaniva a ciev. Prepeličia chorioalantoická membrána by mohla byť potenciálnym in vivo modelom pre štúdium mikrobiálnych lokalizovaných infekcií.
Práca bola podporená grantami VEGA 2/0042/21 a APVV 20-0129.

VPLYV SHANK3-DEFICIENCIE NA GABAERGICKÉ SYNAPSIE V OBLASTI ČUCHOVÉHO BULBU

Mihalj D.¹, Bukatova S.¹, Reichová A.¹, Borbélyová V.², Bačová Z.¹, Bakoš J.^{1,2}

¹Ústav experimentálnej endokrinológie, Biomedicínske centrum, SAV, Bratislava

²Ústav molekulárnej biomedicíny, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava

³Fyziologický ústav, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava

Úvod: Rovnováha medzi excitačným a inhibičným (E/I) signálom je nevyhnutná pre vývin funkčného nervového systému. Kyselina γ -aminomaslová (GABA) je kľúčovým inhibičným neurotransmiterom v CNS, ktorý sa podieľa na tvorbe nervových okruhov a udržiavaní neuronálnej aktivity. K udržiavaniu E/I rovnováhy na molekulárnej úrovni prispieva v inhibičných synapsiách najmä skafoldový proteín gefyrín, tým že ukotvuje podjednotky receptorov pre GABA (GABAR) a glycín v postsynaptickej membráne neurónov. Zmeny v E/I rovnováhe počas vývinu sa považujú za súčasť patofyziológie neurovývinových ochorení vrátane poruchy autistického spektra (PAS), ktorá je sprevádzaná najmä deficitom v sociálnej komunikácii a repetitívnym správaním. Uvádza sa, že u pacientov s PAS sa v skorom štádiu vývinu vyskytujú aj senzორické deficity, vrátane zmenenej funkcie čuchu, ktorý zohráva dôležitú úlohu v sociálnej komunikácii a interakcii. Narušenie čuchového spracovania sociálnych informácií v autizme je možné skúmať na rôznych úrovniach mozgu pomocou transgénnych myšacích modelov, ako sú myši s deficitom Shank3, ktoré sú známe pre svoj behaviorálny fenotyp podobný autizmu. Špecifický molekulárny mechanizmus, ktorým GABA a GABAergický synaptický prenos ovplyvňujú funkciu čuchového bulbu v autizme, zostáva dodnes nejasný. Cieľom predkladanej štúdie bolo vyhodnotiť u Shank3-deficientných myší: 1) hustotu gefyrín-GABAAR-pozitívnych zhlukov v dendritických oblastiach primárnych neurónov izolovaných z čuchového bulbu, 2) zmeny v génovej expresii vybraných komponentov inhibičných synapsií a markerov interneurónov v čuchovom bulbe.

Metodiky: V experimentoch boli použité primárne neuróny z čuchového bulbu, ktoré boli získané izoláciou z neonatálnych Shank3-deficientných a kontrolných myší na P0. Po 10 dňoch in vitro boli bunky fixované a farbené pomocou protilátok voči MAP2, gefyrínu (GPHN) a GABAAR. Fluorescenčný signál bol zaznamenaný pomocou konfokálnej mikroskopie, kým kolokalizácia GPHN/GABAAR bola analyzovaná pomocou softvéru ImageJ/Fiji. Použitím qPCR bola stanovená génová expresia vybraných markerov interneurónov a inhibičných synapsií.

Výsledky: V čuchovom bulbe Shank3-deficientných myší sme pozorovali signifikantne nižšie hladiny mRNA skafoldových proteínov inhibičných synapsií (Gphn, Arhgef9), GABAR podjednotiek (Gabra1,2), enzýmov zapojených do metabolizmu GABA (Gad65, Gad67, Abat) a ďalších markerov GABAergických synapsií (Gat1, Gabarap1 a 2). Okrem toho bola u Shank3-deficientných myší zistená znížená génová expresia vápnik viažuceho proteínu parvalbumínu (Pvalb), ktorý exprimuje dominantná skupina interneurónov v čuchovom bulbe. Predbežné imunocytochemické dáta z primárnych neurónov izolovaných z čuchového bulbu naznačujú signifikantný pokles signálu kolokalizovaných GPHN/GABAAR zhlukov v oblasti dendritov u Shank3 deficientných myší.

Záver: Znížená expresia viacerých markerov GABAergických synapsií v čuchovom bulbe poukazuje na alterácie v štruktúre inhibičných synapsií v myšacom modeli autizmu. Tieto nálezy podporujú aj výsledky z imunocytochemických experimentov,

ktoré naznačujú zníženú hustotu inhibičných synapsí v čuchovom bulbe Shank3-deficientných myší. Špecifické zmeny komponentov inhibičných synapsí v neurónoch čuchového bulbu môžu viesť k E/I nerovnováhe a tým prispieť k poruchám čuchového spracovania u animálnych modelov autizmu. Práca bola podporená grantom APVV-21-0189.

POVRCHOVÁ AKTIVITA A TERAPEUTICKÁ ÚČINNOSŤ SYNTETICKÉHO SURFAKTANTU S REKOMBINANTNÝM COMBO PEPTIDOM KOMBINUJÚCIM VLASTNOSTI SP-B A SP-C PRI EXPERIMENTÁLNO M SYNDRÓME RESPIRAČNEJ TIESNE

Mikolka P.,^{1,2} Kolomaznik M.,² Kosutova P.,² Haegerstrand-Björkman M.,³ Kronqvist N.,⁴ Calkovska A. ¹; Curstedt T.,³ Johansson J.⁴

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

²Martinské centrum pre biomedicínu, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Komenského Univerzita v Bratislave, Martin

³Ústav molekulárnej medicíny a chirurgie, Karolinska Institutet, Karolinska University Hospital, Štokholm

⁴Oddelenie biologických vied a výživy, Karolinska Institutet, Neo, Huddinge

Úvod: Exogénne surfaktanty obnovujú povrchovú aktivitu a účinnú ventiláciu pľúc predčasne narodených detí so syndrómom respiračnej tiesne (RDS). Prítomnosť surfaktantového proteínu (SP)-B a SP-C je nevyhnutná pre správne fungovanie každého surfaktantového fosfolipidového komplexu. Nedávno bol vyvinutý nový Combo analóg, ktorý kombinuje SP-B a SP-C do jedného polypeptidového reťazca. Pri akútnom RDS (ARDS) v dôsledku poškodenia alveolokapilárnej membrány prenikajú zložky plazmy do alveolárnych priestorov a inaktivujú endogénny surfaktant. Surfaktantová terapia pri ARDS je stále rozporuplná, pravdepodobne preto, že doteraz študované exogénne surfaktanty boli citlivé na inhibíciu plazmatickými proteínmi. Cieľom štúdie je overiť odolnosť nového syntetického surfaktantu s modifikovaným rekombinantným Combo peptidom voči inhibícii plazmatických zložiek in vitro a jeho terapeutický potenciál na pľúcne funkcie na králičom modeli RDS in vivo.

Metódy: Syntetický surfaktant sa pripravil zmiešaním 3 % (w/w) rekombinantného (E. coli BL21, vektor pT7) purifikovaného Combo peptidu s fosfolipidovou zmesou DPPC/POPG 50:50 (w/w). Combo peptid bol navrhnutý ako fúzia SP-B analógu Mini-BLeu a SP-C analógu SP-C33Leu do jedného polypeptidu pomocou krátkeho GSG linkera. Povrchová aktivita surfaktantu v prítomnosti plazmatických inhibítorov bola hodnotená pulzujúcim bublinkovým surfaktometrom (PBS). Model RDS predstavoval ventilované predčasne narodené plody Novozélandského bieleho kráľika (cisársky rez v gestačnom veku 27 dní z 32), ktoré boli liečené bolusovými intratracheálnymi aplikáciami Combo surfaktantu alebo Poractantu alfa (Curosurf) 2,5 ml/kg, 80 mg fosfolipidov/ml. Dychové objemy sa pravidelne zaznamenávali počas 30 min od podania surfaktantu.

Výsledky: Albumín alebo fibrinogén v koncentrácii 4 mg/ml významne zvyšovali minimálne povrchové napätie (γ_{min}) Poractantu alfa na rozdiel od žiadneho účinku na Combo surfaktant pri koncentrácii 2,5 mg/ml po 5 minútach pulzovania na PBS. $\gamma_{min} \pm SD$ pre Combo surfaktant a Poractant alfa: pre albumín (0,76 \pm 1,67 vs. 17,71 \pm 1,42

mN/m, $p=0,04$), pre fibrinogén ($0,10\pm 0,22$ vs. $12,56\pm 6,92$ mN/m, $p=0,02$). Navyše γ min Combo surfaktantu bolo významne nižšie v porovnaní s Poractantom alfa pri koncentrácii 1,25 mg/ml ($2,82\pm 2,61$ vs. $14,34\pm 3,02$ mN/m, $p=0,008$). Pri RDS, terapia Combo surfaktantom a Poractantom alfa významne zlepšila dychové objemy (median; 20.59 a 18.21 vs. 3.41 ml/kg, oba $p<0.01$) počas ventilácie a viedla k výraznému otvoreniu alveol a zvýšeniu objemu vzduchu v pľúcach (14.2 a 13.95 vs. 2.5 ml/kg; oba $p<0.01$) v porovnaní s kontrolami.

Záver: Syntetický surfaktant s novým Combo peptidom bol terapeuticky efektívny pri RDS modelí a vysoko odolný voči inaktivácii plazmatickými proteínmi, a aj pri nízkych koncentráciách vykazoval svoju funkčnosť minimálnym povrchovým napätím na PBS, čo naznačuje jeho potenciál na liečbu ARDS.

Podporené: Swedish Research Council 2020-02434, CIMED, VEGA 1/0004/21.

MATEMATICKÝ MODEL JAKO NÁSTROJ PRO VYSVĚTLENÍ ÚČINKŮ LÁTEK NA MECHANICKOU RESTITUCI KARDIOMYOCYTU MORČETE

Nováková M., Pásek M.

Fyziologický ústav Lékařské fakulty Masarykovy university, Brno

Cíl: Cílem práce bylo vysvětlit účinek verapamilu a ryanodinu na křivku mechanické restituce kardiomyocytu morčete pomocí matematického modelu.

Metodika: Biologická data pro tuto studii byla získána na papilárních svalech izolovaných z pravé komory srdcí morčat. Svaly byly umístěny v horizontální perfúzní lázničce v Krebs-Henseleitově roztoku ($1,25\text{mM Ca}^{2+}$; 95 % O_2 :5 % CO_2 ; 30 °C) a stimulovány s frekvencí 1 Hz (1 ms pulzy, dvojnásobek prahové hodnoty). Vyvolané stahy byly zaznamenány tensometrem za přísně izometrických podmínek. Ustálené stahy byly využity pro normalizaci křivky mechanické restituce, která byla rekonstruována na základě standardního protokolu aplikace předčasných stimulů. Po registraci za kontrolních podmínek byl celý protokol zopakován po 20 minutové expozici látkám, které zasahují do transportu vápníku v srdeční buňce: kobalt, verapamil, cyklopiazonová kyselina a ryanodin. Pro všechny látky byla nejprve stanovena kumulativní dose-response křivka a pro další experimenty byla vybrána koncentrace vedoucí k přibližně 50% poklesu kontrakce stimulovaných stahů. Pro další analýzy byly vybrány dvě látky: byl studován vliv 200 nM roztoku verapamilu a 10 nM ryanodinu na křivku mechanické restituce. Experimentálně získaná data byla zrekonstruována pomocí matematického modelu komorového kardiomyocytu morčete.

Výsledky: Simulací na modelu bylo zjištěno, že monotónní (nejprve rychlé a poté pomalejší) zotavení mechanické aktivity kardiomyocytu v kontrolních podmínkách a také pod vlivem verapamilu je způsobeno postupným zotavováním vápníkového proudu ICa z inaktivace a náborem Ca^{2+} do sarkoplazmatického retikula (SR).

Velmi specifický tvar křivky mechanické restituce pod vlivem ryanodinu obráží jeho mnohem komplexnější dopad na intracelulární pohyb Ca^{2+} a svalový stah. Pozdější, a přitom velmi rychlý nástup restituce je způsoben počáteční sníženou citlivostí ryanodinových kanálů k ICa a následně jejich rychlým zotavením. Následný pomalý pokles restituční křivky obráží dynamiku úniku Ca^{2+} ze SR zprostředkovaného malou frakcí ryanodinových kanálů, které zůstávají po expozici ryanodinu trvale otevřené. To odpovídá přibližně 25% poklesu kontrakce stimulovaných stahů v experimentálních

datech.

Závěr: Verapamil a ryanodin vykazují rozdílné účinky na křivku mechanické restituce srdečního svalu morčete. Využití matematického modelu kardiomyocytu morčete umožnilo osvětlit dynamiku intracelulárních dějů zodpovědných za poměrně složitější průběh restituční křivky pod vlivem ryanodinu.

Podpořeno projektem MUNI/A/1342/2022.

METHYLFENIDÁT POTLAČUJE MECHANICKOU A CHLADOVOU ALODYNII U POTKANŮ S PERIFERNÍ NEUROPATICKOU BOLESTÍ

Panušková K., Vaculín Š.

Ústav fyziologie 3. LF UK, Praha

Úvod a cíle: Methylfenidát, psychostimulant zvyšující hladinu dopaminu a noradrenalinu, je používaným lékem u syndromu ADHD. U pacientů s ADHD léčených methylfenidátem byly zaznamenány změny v prahu bolesti. Cílem této práce bylo zjistit, zda methylfenidát ovlivní práh bolesti na animálním modelu periferní neuropatické bolesti.

Metody: Neuropatická bolest byla modelována chronickou konstrikcí ischiadického nervu (CCI) podle originální studie Bennetta a Xieho (1988) u potkanů Wistar. Účinek methylfenidátu (1 mg/kg, s.c.) na evokovanou a spontánní bolest byl hodnocen u kontrolních zvířat a u zvířat s CCI reflexními (plantar test, vonFrey test) a operantními testy (metoda teplotní podmíněné preference TPP) 10. a 14. den po operaci a metodou podmíněné preference místa.

Výsledky: CCI vyvolalo snížení mechanického a tepelného prahu bolesti ipsilaterální končetiny oproti kontralaterální končetině a vyhýbání se studené ploténce v TPP. Methylfenidát normalizoval mechanický práh ipsilaterální končetiny u skupiny CCI (před $47,67 \pm 3,26$ g; po $74,09 \pm 4,21$ g; $p < 0,001$), neměl žádný vliv na tepelný práh bolesti, prodloužil dobu pobytu na studené ploténce v TPP (před $66,5 \pm 9,21$ s; po $216,5 \pm 76,19$ s; $p = 0,02$) a nakonec nevyvolal preferenci v CPP. MP neměl žádný účinek u kontrolních skupin ve všech testech kromě plantárního testu.

Závěr: Methylfenidát nezměnil ani prahy bolesti ani preference u kontrol, zatímco eliminoval chladovou a mechanickou alodynii vyvolanou chronickým konstričním poraněním. Methylfenidát má potenciální využití při léčbě neuropatických bolestivých stavů.

SLEDOVANIE ÚČINNOSTI PODÁVANIA MOLEKULÁRNEHO VODÍKA INHALÁCIOU A PITÍM OBOHATENEJ VODY PRI LIEČBE ŽIARENÍM VYVOLANÉHO POŠKODENIA SRDCA

Pavelková P., Kaločayová B., Slezák J., Kura B.

Centrum experimentálnej medicíny, Ústav pre výskum srdca, Slovenská akadémia vied, Bratislava

Úvod: Rádioterapia v oblasti hrudníka aplikovaná pri onkologických ochoreniach môže spôsobiť nežiadúce poškodenie srdca a okolitých ciev, ktoré sa zvyčajne prejaví až niekoľko rokov po liečbe. Takéto poškodenie môže byť výsledkom viacerých

mechanizmov, pričom ako hlavné dva poznáme priame poškodenie biomakromolekúl a nepriame poškodenie rádiolýzou vody. Pri nepriamom poškodení vznikajú voľné radikály, ktoré následne poškodzujú bunky kardiovaskulárneho systému, čoho výsledkom môže byť až srdcové zlyhanie.

Podávanie molekulárneho vodíka sa ukazuje ako účinná stratégia v riešení oxidačného stresu pri viacerých ochoreniach. V literatúre sa uvádza, že vodík ako selektívny antioxidant eliminuje toxické hydroxilové radikály, pričom fyziologicky nevyhnutné reaktívne formy kyslíka (ROS) zapojené v bunkovej signalizácii zostávajú intaktné. Pri niekoľkých poškodeniach spôsobených hydroxidovými radikálmi bolo pozorované, že podávanie molekulárneho vodíka viedlo k zmierneniu týchto patologických zmien. Predpokladáme teda, že použitím molekulárneho vodíka v modeli srdca poškodeného ionizujúcim žiarením dosiahneme signifikantné zníženie markerov oxidačného stresu a zápalu.

Experimentálny model: Ako experimentálny model sme použili trojmesačné Wistar potkany, samce, ktoré boli jednorazovo ožiarené ionizujúcim žiarením v oblasti mediastína celkovou dávkou 10 Gy (4-5 Gy/min.). Zvieratá boli následne rozdelené do dvoch experimentálnych skupín na základe formy podávania vodíka. Prvá skupina dostávala H₂ formou inhalácie (3×30 min., zmes vzduchu obohateného o 4% H₂). Druhá skupina zvierat bola liečená vodou obohatenou o H₂ (3×3 ml, min. 1 mg/l H₂) gavážovaním. Pre zjednotenie stresových faktorov vzniknutých gavážovaním sme rovnakým spôsobom podávali čistú vodu bez pridaného H₂ aj prvej skupine zvierat.

Výsledky: Dva a deväť dní od ožiarenia mediastína sme v krvnej plazme pozorovali signifikantne zmenené hodnoty markerov oxidačného stresu a zápalu v porovnaní so zvieratami, ktoré nepodstúpili ožiarenie. Podávanie molekulárneho vodíka vo forme vody obohatenej o vodík a taktiež inhaláciou plynnej zmesi vzduch-vodík eliminovalo tieto zmeny po ožiarení, a to ako po dvoch, tak aj po deviatich dňoch od ožiarenia, kedy sme zaznamenali signifikantné zníženie v priemere o 20,2% v porovnaní s neliečenou ožiaranou skupinou zvierat.

Záver: Naše výsledky naznačujú, že molekulárny vodík môže byť vhodný pri liečbe poškodenia srdca vyvolaného ožiarením, nakoľko efektívne znížil všetky nami merané parametre oxidačného stresu (malondialdehyd, superoxid, glutatión peroxidázu, superoxid dismutázu) a zápalu (NF- κ B). Zo získaných výsledkov vyplýva, že inhalácia molekulárneho vodíka sa ukazuje ako účinnejšia forma jeho podávania v porovnaní s prijímaním vody obohatenej o vodík.

Tento projekt bol financovaný z grantov VEGA (2/0063/18, 2/0092/22 a 2/0148/22), APVV (APVV-15-0376, APVV-19-0317) a grantu Ministerstva školstva, vedy a výskumu Slovenskej republiky (2019/4-CEMSAV-1).

ZAPOJENIE REDOXNEJ SIGNALIZÁCIE A AUTOFÁGIE DO MECHANIZMOV ZAHRNUTÝCH V ODPOVEDIACH BUNIEK HEK293 NA ÚČINKY DOXORUBICÍNU

Pecníková V., Barančík M., Boťanská B.

Ústav pre výskum srdca Centra experimentálnej medicíny SAV, v.v.i., Bratislava

Úvod: Doxorubicín (DOX) je antracyklínové chemoterapeutikum, ktoré môže potencionálne spôsobovať toxické účinky na normálne bunky viacerých orgánov

(srdce, mozog, obličky). Najpravdepodobnejším mechanizmom toxicity DOX je zvýšená produkcia voľných kyslíkových radikálov a vznik oxidačného stresu. Hlavným znakom vzniku oxidačného stresu je nerovnováha medzi reaktívnymi formami kyslíka (RFK) a antioxidantmi. Zvýšenou tvorbou RFK a teda vznikom oxidačného stresu sa poškodzujú dôležité bunkové makromolekuly ako proteíny, lipidy a nukleové kyseliny. Voči voľným radikálom si bunky vyvinuli obranný antioxidantný systém. Kľúčovú úlohu v tomto obrannom systéme hrá signálna dráha Nrf2. Nrf2 je transkripčný faktor, ktorý je za normálnych podmienok neustále degradovaný proteazómom prostredníctvom ubikvitinácie a v tomto procese má dôležitú úlohu jeho endogénny inhibitor Keap1. Okrem aktivácie signálnej dráhy Nrf2 môže zvýšená tvorba RFK indukovať a aj regulovať autofágiu. Autofágia je degradačný proces v bunke závislý od lyzozómov a má významnú úlohu v udržiavaní normálnej homeostázy bunky. Jej funkcia úzko súvisí s redoxnou bunkovou signalizáciou a pri stresových podmienkach je jej krátkodobá aktivácia spojená s ochranou bunky voči poškodeniu. Autofágia a signálna dráha Nrf2 sa môžu navzájom regulovať prostredníctvom interakcie medzi proteínom p62 a Keap1. Tým dochádza k nukleárnej translokácii a aktivácii Nrf2 a iniciuje sa zvýšená expresia génov kódujúcich antioxidantné proteíny, ako aj proteíny zapojené do procesov autofágie.

Cieľ: Cieľom našej práce bolo charakterizovať úlohu autofágie v molekulárnych mechanizmoch zahrnutých v odpovediach buniek HEK293 na účinky DOX. Skúmali sme taktiež vplyv podávania sulforafanu (SFN), prírodný antioxidant a aktivátor Nrf2, na účinky DOX.

Metódy: Ako modelový organizmus sme zvolili bunky HEK293, ľudské embryonálne obličkové bunky. Okrem sledovania vplyvu samotného DOX alebo SFN na bunky HEK293, sme skúmali aj vplyv aplikácie SFN na zmeny vyvolané pôsobením DOX. Pri sledovaní vplyvu SFN na účinky DOX sme bunky predkultivovali 2 hodiny so SFN a potom sme následne na 22 hodín pridali DOX. Po lýze buniek a izolácii solubilnej proteínovej frakcie sme Western blot analýzou s využitím špecifických protilátok sledovali zmeny v proteínoch zapojených do procesov autofágie (proteíny tepelného stresu a beklín-1), ako aj Nrf2 signalizácie (Nrf2, Keap1).

Výsledky: Zistili sme, že samotný DOX nemal významný vplyv na proteínové hladiny HSP40 a HSP60, k významnému zvyšovaniu hladín týchto proteínov zapojených do procesov autofágie dochádzalo po ovplyvnení SFN. Kým v prípade HSP40 stimuloval SFN zvyšovanie jeho proteínových hladín za kontrolných podmienok (v neprítomnosti DOX), pri HSP60 sulforafan zvyšoval hladiny tohto proteínu v situácii, keď boli bunky vystavené aj účinkom DOX. Podávanie DOX, významne zvýšilo proteínové hladiny beklínu-1, čo bolo podobné účinkom DOX na hladiny Keap1. Predkultivácia buniek so SFN nemala významný vplyv na zmeny v hladinách Keap-1 indukované účinkom DOX, účinkom SFN však dochádzalo k významnému zvýšeniu proteínových hladín Nrf2.

Záver: Na záver môžeme konštatovať, že doxorubicín aktivuje signálnu dráhu Nrf2, ale samotný nemá vplyv na autofágiu. Na druhej strane, kombinácia doxorubicínu a sulforafanu neovplyvňuje signalizáciu cez Nrf2, ale má výraznejší vplyv na autofágiu. Výsledky poukazujú na to, že protektívna úloha SFN voči cytotoxickým účinkom DOX je spojená s aktiváciou Nrf2 a následnou reguláciou HSP60. Účinky samotného SFN sú navyše spojené so zmenami (zvyšovaním) hladín HSP40. To poukazuje na možné prepojenie redoxnej signalizácie sprostredkovanej Nrf-2 a autofágie v účinkoch realizovaných po podávaní SFN.

Podporené grantmi APVV-18-0548 a VEGA-SR 2/0179/21.

ANOREXIGENIC EFFECT OF PERIPHERALLY APPLIED PALMITOYLATED PROLACTIN-RELEASING PEPTIDE (PALM-PRRP31) IN WILD TYPE AND G-PROTEIN COUPLED RECEPTOR (GPR10) DEFICIENT FEMALE MICE

Szadvári I.¹, Pirník Z.^{1,2,3}, Maletínská L.³

¹*Institute of Physiology, Faculty of Medicine, Comenius University in Bratislava*

²*Biomedical Research Center, Institute of Experimental Endocrinology, SAS, Bratislava*

³*Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, CAS, Prague*

Endogenous prolactin-releasing peptide (PrRP) plays important role in food intake regulation and energy expenditure as well as in the regulation of the cardiovascular system, pain and stress. PrRP binds with high affinity to G-protein coupled receptor (GPR10) located mainly in the paraventricular hypothalamic nucleus (PVN), dorsomedial hypothalamic nucleus (DMN) and nucleus tractus solitarii (NTS). Recently we have shown that GPR10 *-/-* mice display mild late-onset obesity but only female ones had increased expression of lipolytic and attenuated lipogenetic enzymes in the liver and white adipose tissue (WAT). Retrograde study denoted that lateral hypothalamic area (LHA) together with arcuate hypothalamic nucleus (Arc) and NTS were identified as sites of both liver and WAT innervation via the PVN. In addition, hypocretin (HCRT) neurons of LHA are directly interconnected with subpopulation of Arc neurons expressing orexigenic neuropeptide Y as well as with anorexigenic ones produced by proopiomelanocortin. In the present study, we aim to explore if the anorexigenic effect of peripherally administrated PrRP31 molecule lipidized by palmitoyl (palm-PrRP31) is related to GPR10 and brain sites involved in food intake regulation and energy expenditure in female mice. The food intake in overnight fasted wild type (WT) and female GPR10 *-/-* mice was analyzed and Fos and Fos-HCRT immunohistochemically staining was determined on brain free floating sections of selected hypothalamic and brainstem nuclei related to food intake regulation. The statistical analysis confirmed a loss of suppressive effect of subcutaneously administered palm-PrRP31 on food intake in female GPR10 *-/-* mice compared to their WT littermates. In both genotypes, palm-PrRP31 lead to the activation of NTS and PVN cells. In addition, while in WT mice palm-PrRP31 had tendency to activation of Arc cells, in GPR10 *-/-* mice had tendency to decrease activation of HCRT neurons of LHA. Obtained data indicate that intact GPR10 is necessary for anorexigenic effect of peripherally applied palmytoylated PrRP31 analog.

This study was supported by VEGA grant No 1/0062/21 and APVV-20-0114 grant.

METODY DETEKCE MYELINU POMOCI MRI

Pokošová P.

CTU, Prague

Správná funkce mozku značně závisí na souhře řady buněčných typů. Oligodendrocyty jsou buňky, které poskytují dlouhým výběžkům nervových buněk – axonům – nejenom mechanickou a metabolickou podporu, ale především elektrickou izolaci myelinem. Myelinové pochvy se vytváří v průběhu zrání mozku a poruchy v myelinizaci se projeví rozličným klinickým obrazem řady neurologických patologií. Odchytky v myelinizaci

byly doposud popsány nejen u primárních poruch myelinu, ale i u několika dalších neurologických onemocnění včetně epilepsie. Metody, které umožní longitudinální zhodnocení obsahu a v ideální případě i kvality myelinu v anatomickém rozlišení jsou tak velmi žádoucí. Pro získání co nejkvalitnějších dat budeme v první větvi výzkumu testovat myelin senzitivní MRI sekvence a jejich kombinaci. Sekvence budou testovány jak na fyzikálních fantomech, dobrovolnících, ale i pacientech s konkrétní patologií myelinu. Kandidátními sekvencemi, na které se v první fázi zaměříme, jsou metody kvantifikace relaxačního času T1 pomocí proměnného sklápěcího úhlu, DIR – double inversion recovery, případně dalších, které budou poskytovat nejlepší myelin specifický signál.

VZŤAH KOPEPTÍNU K TEÓRII MYSLE, INTELEKTU A JADROVÝM PRÍZNAKOM U DETÍ S PORUCHOU AUTISTICKÉHO SPEKTRA

Polónyiová K., Babková J., Ostatníková D.

Akademické centrum výskumu autizmu, Fyziologický ústav, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava

Hormón arginín-vazopresín (AVP) je neuropeptid, ktorý plní rôzne fyziologické funkcie a pomáha udržiavať stálosť vnútorného prostredia. V súčasnosti je intenzívne skúmaná aj jeho úloha v modulovaní sociálneho správania a dysregulácia sekrécie AVP pri ochoreniach typických sociálnymi deficitmi, ako je porucha autistického spektra (PAS). Nízke hladiny AVP u jedincov s PAS sú taktiež spájané s deficitmi v teórii mysle a kognitívnymi deficitmi. Meranie hladín AVP je však technicky náročné vzhľadom na jeho krátky polčas rozpadu ako aj obťažnú metódu detekcie. Kopeptín je stabilnejší peptid odvodený z rovnakej prekurzorovej molekuly, ktorý sa uvoľňuje v ekvimolárnom pomere k AVP, a preto hladiny plazmatického kopeptínu možno použiť ako surrogátneho marker koncentrácií AVP. Cieľom nášho výskumu bolo analyzovať hladiny kopeptínu u detí s PAS a skúmať ich vzťah s jadrovými príznakmi PAS, teóriou mysle a intelektom. Výskumnú vzorku tvorilo 35 detí s PAS, 28 chlapcov a 7 dievčat, vo veku 6-12 rokov ($M=9.37$, $SD=1.74$). Inteligenčný kvocient sa pohyboval v rozpätí 70-131, s priemerom 98.49 a štandardnou odchýlkou $SD=15.88$. Participantom bola PAS diagnostikovaná v Akademickom centre výskumu autizmu na Fyziologickom ústave LF UK, štandardnými diagnostickými metódami ADOS-2 a ADI-R, ktoré súčasne popisujú závažnosť jadrových príznakov PAS. Teória mysle a jej subškály boli vyšetrené prostredníctvom The Comic Strip Task a intelekt použitím Woodcock-Johnson International Editions II. Hladiny kopeptínu v plazme boli hodnotené metódou ELISA, s využitím komerčného ELISA kitu podľa inštrukcií výrobcu.

Na základe výsledkov Spearmanovho korelačného koeficientu sme identifikovali niekoľko pozitívnych korelácií. Hladiny kopeptínu stredne silno korelovali s úzko vymedzenými, repetitívnymi a stereotypnými vzorcami správania ($r_s=0.413$ $p=0.014$) ale aj s kreativitou detí ($r_s=0.396$ $p=0.019$). Kopeptín taktiež pozitívne koreloval so subškálami inteligencie, dlhodobou pamäťou ($r_s=0.323$ $p=0.050$) a schopnosťami myslenia ($r_s=0.323$ $p=0.050$). V prípade teórie mysle sme zaznamenali pozitívny vzťah so škálou porozumenie zámerom ($r_s=0.352$ $p=0.049$).

Naše závery naznačujú, že hladiny plazmatického AVP, meraného prostredníctvom jeho surrogátneho markeru kopeptínu, môžu súvisieť so závažnosťou niektorých jadrových

príznačkov PAS ako aj s deficitmi v teórii mysle a niektorými kognitívnymi schopnosťami. Práca bola podporená grantmi APVV-20-0070, APVV-20-0139 a VEGA 1/0068/21.

VLIV MĚSÍČNÍHO POBYTU V DĚTSKÉ LÉČEBNĚ KŘETÍN NA STAV VÝŽIVY A KARDIOVASKULÁRNÍ ZDRAVÍ DĚTÍ A DOSPÍVAJÍCÍCH S ALIMENTÁRNÍ OBEZITOU

Rafčíková N.¹, Budínská X.¹, Pírek O.¹, Nádeníčková O.², Bednaříková K.², Hrstková H.³, Šťastná J.³, Dobšák P.⁴, Nováková Z.¹

¹Fyziologický ústav, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity, Brno

²Dětská léčebna Křetín

³Pediatrická klinika, Fakultní nemocnice Brno a LF MU, Brno

⁴Klinika tělovýchovného lékařství a rehabilitace, Fakultní nemocnice u sv. Anny a LF MU, Brno

Úvod: Obezita dětí a dospívajících je v současnosti stále důležitým problémem zdravotnického systému, neboť vede k vyššímu riziku kardiologických, metabolických, ortopedických i psychologických komorbidit do budoucna. Tato studie měla za cíl zhodnotit vliv jednoměsíčního léčebného pobytu dětí a dospívajících s alimentární obezitou na stav jejich výživy a kardiovaskulárního zdraví.

Materiály a metody: Výzkumu se zúčastnilo 60 respondentů ve věku 9 až 17 let s alimentární obezitou, kteří byli rozděleni do tří skupin dle věku: 9–11 let (13 chlapců, 8 dívek), 12–14 let (16 chlapců, 9 dívek) a 15–17 let (9 chlapců, 5 dívek). Každý respondent absolvoval dvě sady měření, první po přijetí do dětské léčebny a druhou na konci měsíčního pobytu. Součástí obou měření bylo stanovení následujících parametrů: z antropometrických se jednalo o tělesnou hmotnost (BWT) a procento tělesného tuku (TUK) stanovené pomocí osobní váhy (TANITA, InnerScanV, BC-601); obvod pasu a boků (WC a HC) změřené certifikovaným centimetrem a výpočty: poměr pas/boky (WHR) a index tělesné hmotnosti (BMI). Z kardiovaskulárních parametrů byl pomocí přístroje VaSera (Fukuda Denshi, Japonsko) měřen systolický (SP) a diastolický (DP) krevní tlak, kotníkové indexy: cardio-ankle vascular index (CAVI) a ankle-brachial index (ABI). Aplanační tonometrií (SfygmoCor, AtCor Medical, Austrálie) byla stanovena rychlost pulzové vlny (PWV) a její analýza.

Výsledky: Všechny výsledky antropometrických parametrů byly při přijetí do léčebny nad 97. percentilem. Po měsíčním pobytu došlo ke statisticky významnému snížení v následujících parametrech: BWT (75,5 vs. 72,6 kg; $p < 0,01$), BMI (28,6 vs. 26,9 kg/m²; $p < 0,01$), HC (101,5 vs. 99,5 cm; $p < 0,01$), DP (64 vs. 62 mm Hg; $p < 0,01$), a PWV (7,1 vs. 6,5 m/s; $p < 0,05$) a ke statisticky významnému zvýšení v parametrech ABI (0,96 vs. 1,02; $p < 0,01$) a WC (87,5 vs. 88 cm; $p < 0,01$).

Závěr: Výsledky naší studie ukázaly, že dětská obezita má převážně negativní dopad na kardiovaskulární systém, především jeho periferní arteriální část (DP, PWV). Zároveň nás výsledky utvrzují v tom, že jednoměsíční pobyt v léčebně vykazuje významné zlepšení zdravotního stavu a je důležitou součástí nabídky v řešení dětské obezity.

Studie byla podpořena Specifickými výzkumy Masarykovy univerzity: MUNI/A/1133/2021 a 1343/2022.

MELATONÍN AKO KORELÁT EXEKUTÍVNEJ DYSFUNKCIE U DETÍ S PORUCHAMI AUTISTICKÉHO SPEKTRA

Rašková B., Kopčíková M., Stebelová K., Babinská K.

Univerzita Komenského v Bratislave, Lekárska fakulta, Fyziologický ústav, Akademické centrum výskumu autizmu, Bratislava

Úvod: Poruchy autistického spektra (PAS) patria medzi neurovývinové poruchy, ktoré charakterizuje narušená sociálna interakcia a komunikácia, repetitívne stereotypné správanie a zúžené záujmy. Je to komplexná a heterogénna porucha, ktorá sa obvykle klinicky prejaví už v ranom detstve a pretrváva aj v dospelosti. Jej etiopatogenéza nie je objasnená a spoľahlivý biomarker, ktorý by mohol byť využitý v praxi, sa ešte nepodarilo odhaliť. Pri PAS môžu byť narušené aj exekutívne funkcie, ktoré umožňujú reguláciu rôznych kognitívnych, perцепčných a motorických procesov. Jedinci s exekutívnou dysfunkciou majú často problémy s plánovaním, kontrolou správania, ale aj s pozornosťou a s využívaním už získaných vedomostí. U jedincov s PAS sú časté aj poruchy spánku, ktoré môžu zhoršovať charakteristické prejavy tejto poruchy a ovplyvňovať aj exekutívne funkcie, a tým aj kvalitu života jednotlivca. Tieto problémy môžu mať súvis so zníženou hladinou melatonínu, neurohormónu, ktorý sa podieľa na regulácii biologických rytmov a spánkového cyklu. Pri PAS boli pozorované znížené hladiny melatonínu. Cieľom prezentovanej štúdie bude stanoviť hladiny 6-sulfatoxymelatonínu v moči, ktorý je hlavným odpadovým produktom melatonínu, sledovať parametre spánku a výskyt spánkovej dysfunkcie a analyzovať ich korelácie s ukazovateľmi exekutívnych funkcií.

Metódy: Do štúdie boli zapojené deti s poruchou autistického spektra, ktoré boli vyšetrené v Akademickom centre výskumu autizmu na Fyziologickom ústave Lekárskej fakulty UK. Výskumný súbore tvorilo 30 detí, z toho 23 chlapcov (76,7%) a 7 dievčat (23,3%). Vek detí sa pohyboval v rozsahu od 25 do 50 mesiacov, s priemerným vekom $M=34,2$ mesiacov a $SD=5,93$. Mieru autistických príznakov sme hodnotili diagnostickými nástrojmi ADOS-2 (Autism Diagnostic Observation Schedule – 2nd Edition) a ADI-R (Autism Diagnostic Interview – Revised). Exekutívne funkcie sme hodnotili pomocou dotazníka Behavior Rating Inventory of Executive Function – Preschool Version (BRIEF-P), ktorý posudzuje exekutívne funkcie podľa správania dieťaťa v domácom a predškolskom prostredí. Parametre spánku sme určovali pomocou Children's Sleep Habits Questionnaire (CSHQ). Na stanovenie hladín 6-sulfatoxymelatonínu v prvom rannom moči sme použili metódu ELISA využitím komerčného kitu podľa inštrukcií výrobcu. Vzorky prvého ranného moču boli odobraté rodičmi v domácom prostredí.

Výsledky: Preskúmali sme vzťah medzi problémami v exekutívnych funkciách a zníženými hladinami normalizovaného 6-sulfatoxymelatonínu v moči detí. Výsledky ukázali, že medzi týmito premennými nie je žiaden vzťah. Skúmali sme, či prítomnosť a závažnosť spánkovej dysfunkcie koreluje so zníženými hladinami 6-sulfatoxymelatonínu, avšak vyššia miera problémov so spánkom v našom výskumnom súbore nesúvisela s nižšou hladinou normalizovaného 6-sulfatoxymelatonínu v moči detí s PAS. Zistili sme signifikantný vzťah medzi závažnosťou exekutívnej dysfunkcie a mierou problémov so spánkom u detí s PAS. Preukázali sme štatisticky významné priame korelácie medzi závažnosťou porúch spánku a závažnosťou poruchy exekutívnych funkcií.

Záver: V našom súbore sa vysoká prevalencia porúch spánku potvrdila, keďže cut-off skóre prekročilo 28 z 30 detí. Naš predpoklad, že hladiny 6-sulfatoxymelatonínu

budú korelovať so spánkovou a exekutívnou dysfunkciou sa nepotvrdili, avšak väčšie problémy so spánkom súviseli s vyššou mierou závažnosti poruchy exekutívnych funkcií. Iné štúdie taktiež zistili, že podávanie melatonínu deťom s PAS zlepšuje ich spánok v rôznych oblastiach. Veríme, že je potrebné pokračovať v štúdiu exekutívnej a spánkovej dysfunkcie a analýzou ich súvislostí s melatonínom, aby mohli byť tieto poznatky ďalej použité v intervenciách, a tým zlepšovať každodenné fungovanie a kvalitu života týchto detí.

Podoporené grantom: APVV – 20 -0139, APVV – 20 – 0070

Kľúčové slová: poruchy autistického spektra, exekutívne funkcie, spánok, melatónin

VEDE ČASNÁ SOCIÁLNI IZOLACE U POTKANA K AMPLIFIKACII NEŽÁDOUCÍCH ÚČINKŮ HALOPERIDOLU NA SRDCE?

*Stračina T., Nádeníček J., Rafčíková J., Bartáková A., Nováková M.
Fyziologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno*

Úvod: Populační longitudinální studie ukazují, že míra sociální izolace silně koreluje se zvýšeným rizikem vzniku kardiovaskulárních nemocí. Molekulární mechanismy odpovědné za zvýšení kardiovaskulárního rizika zůstávají nejasné. Jako jeden z nadějných molekulárních cílů pro studium a možné ovlivnění rozvoje kardiovaskulárních nemocí se jeví sigma 1 receptor. Sigma 1 receptory jsou exprimovány v celé řadě tkání, včetně centrální nervové soustavy a srdce. Haloperidol je antipsychotikum běžně užívané k léčbě akutních i chronických psychotických stavů. U léčených pacientů se ojediněle vyskytují závažné kardiovaskulární nežádoucí účinky jako prodloužení QTc intervalu a závažné komorové arytmie. Haloperidol je dlouho známým antagonistou sigma 1 receptorů.

Cíl: Cílem prezentovaného pokusu bylo zjistit, zda časná sociální izolace u laboratorních potkanů může zesílit reakci srdce na akutní podání haloperidolu.

Metody: Do pokusu bylo zařazeno 16 samců laboratorního potkana kmene Wistar ve věku 25 dnů. Zvířata byla náhodně rozdělena do dvou skupin: sociálně izolovaná zvířata (skupina I, n=8) a zvířata ustájená v sociálních skupinách (skupina G, n=8). Zvířata ze skupiny I byla ustájena v chovných nádobách samostatně. Chovné nádoby byly umístěny tak, aby zvířata neměla žádný vzájemný vizuální kontakt. Zvířata ze skupiny G byla ustájena v sociálních skupinách o 4 jedincích. Po 10 týdnech ustájení byla zvířata uvedena do celkové anestezie (isofluran, 5% indukce, 2-3% udržování). Poté byla zvířatům zavedena kanyla do jugulární žíly a byl intravenózně podán roztok haloperidolu ve dvou bolusových dávkách (každá 0,3 mg/kg) s rozstupem 4 minut. Po dalších 4 minutách byla zvířata vystavena dobutaminovému testu (kontinuální i.v. infuze dobutaminu; 0,04 mg/min po dobu 3 minut). Po ukončení dobutaminové infuze byla zvířata monitorována po dobu dalších 10 minut. Během celého pokusu bylo u zvířat zaznamenáváno EKG v jednom bipolárním svodu. Tělesná teplota u zvířat byla udržována pomocí vyhřívací podložky (RightTemp, Kent Scientific) v rozmezí 37±0,5 °C (měřeno rektálně). EKG bylo vyhodnoceno pomocí automatické detekce s manuální korekcí (LabChart 8 Pro, AD Instruments). Byla stanovena srdeční frekvence a délka QT intervalu před podáním haloperidolu, 1 a 4 minuty po obou bolusových dávkách, na konci dobutaminového testu a 5 minut po jeho ukončení. Délka QT intervalu byla korigována na srdeční frekvenci (QTc) podle Framinghamské rovnice. Statistická

analýza bola provedená v prostredí GraphPad Prism 9 (GraphPad Software). Normalita rozložení dat bola testovaná pomocou Shapiro-Wilk testu. Na základe jeho výsledkov boli zvolené vhodné parametrické alebo neparametrické testy pre testovanie rozdiľov medzi jednotlivými fázami pokusu a medzi skupinami. Výsledky jsou prezentované jako průměr ± SD.

Výsledky: Srdeční frekvence před prvním podáním haloperidolu byla u skupiny I statisticky významně nižší než u skupiny G ($349 \pm 32/\text{min}$ vs. $386 \pm 28/\text{min}$; nepárový t test, $p=0,027$). V žádné další fázi pokusu se Srdeční frekvence mezi skupinami významně nelišily. Mezi skupinami rovněž nebyl zjištěn rozdíl v délce QTc intervalu v průběhu celého pokusu. U obou skupin bylo zaznamenáno statisticky nesignifikantní prodloužení QTc intervalu 4 min po podání první dávky haloperidolu ($+4,2$ ms u skupiny I; $+3,2$ ms u skupiny G; v porovnání s průměrnou délkou QTc před podáním haloperidolu). Druhá dávka haloperidolu nevedla k dalšímu prodloužení QTc v žádné ze skupin.

Závěr: Výše zmíněné výsledky naznačují, že časná sociální izolace nemá signifikantní vliv na účinek haloperidolu na srdce u samců laboratorního potkana. Pro ověření této hypotézy budou získaná data podrobena další podrobnější analýze.

Poděkování: Práce byla finančně podpořena interním projektem Fyziologického ústavu LF MU (v roce 2022) a projektem specifického výzkumu číslo MUNI/A/1343/2022 (v roce 2023).

ÚČINKY KVERCETÍNU NA VYBRANÉ KARDIOVASKULÁRNE PARAMETRE A ISCHEMICKO-REPERFÚZNE POŠKODENIE SRDCA U STARNÚCICH POTKANOV

Strapec J.^{1,2}, Ferenczyová K.¹, Kindernay L.¹, Kaločayová B.¹, Winterová M.¹, Tóthová Ľ.³, Barteková M.^{1,4}

¹Ústav pre výskum srdca, Centrum experimentálnej medicíny, Slovenská akadémia vied, Bratislava

²Prírodovedecká fakulta, Univerzity Komenského, Bratislava

³Ústav molekulárnej biomedicíny, Lekárskej fakulty Univerzity Komenského, Bratislava

⁴Fyziologický ústav lekárskej fakulty Univerzity Komenského, Bratislava

Úvod: Medzi najzávažnejšie kardiovaskulárne ochorenia patrí ischemická choroba srdca a infarkt myokardu. Medzi látky s priaznivým účinkami na kardiovaskulárny systém, vrátane pozitívneho účinku na ischemicko-reperfúzne (I/R) poškodenie srdca patrí kvercetín (QCT), v prírode bohato zastúpený flavonoid. Avšak väčšina štúdií dokumentujúcich priaznivý účinok QCT na I/R poškodenie srdca bola dosiaľ realizovaná výlučne na mladých zvieratách. Keďže v klinickej praxi sa stretávame s I/R poškodením srdca (napr. vo forme akútneho infarktu myokardu) najmä u pacientov vo vyššom veku, prípadne s pridruženými komorbiditami a komedikáciami, cieľom našej práce preto bolo zistenie účinkov QCT na krvný tlak, I/R poškodenie srdca a oxidačný status u starnúcich jedincov, konkrétne u 24- mesačných potkanov kmeňa Wistar.

Metodiky: QCT sme podávali počas 6 týždňov ($20\text{mg}/\text{kg}/\text{deň}$ orálne) a na dennej báze sme zaznamenávali biometrické parametre experimentálnych zvierat. Krvný tlak bol potkanom meraný prostredníctvom chvostovej pletyzmografie pred začatím a po ukončení podávania QCT. Po uplynutí 6 týždňov boli zvieratá uvedené do hlbkej anestézy. Srdcia boli vyňaté, umiestnené na Langendorffovu aparáturu a následne boli

vystavené 30 min ischemii/120 min. reperfúzií. Pomocou TTC farbenia sme stanovili veľkosť infarktového ložiska a počas prvých 40 minút reperfúzie sme sledovali obnovu funkčných parametrov srdca. Vplyv QCT na molekulárne dráhy kardioprotekcie sme sledovali s využitím metódy Western blott stanovením expresie proteínov zapojených do RISK signálnej dráhy (Akt, PKC- ϵ , eNOS a GSK-3 β), antioxidantných enzýmov (SOD1 a SOD2) a markerov apoptózy (Bax/Bcl-2). Tiež sme sledovali vplyv QCT na oxidačný stres potkanov z krvnej plazmy so zameraním na marker peroxidácie lipidov TBARS, marker oxidácie proteínov AOPP, marker antioxidantnej kapacity FRAP, marker úrovne glykozylácie proteínov fruktozamin a marker karbonylového stresu AGEs.

Výsledky: Naše výsledky preukázali, že chronická aplikácia QCT nepriniesla priaznivý kardioprotektívny účinok na obnovu srdca po ischemii, naopak, pozorovali sme trend zhoršenia obnovy funkčných parametrov srdca po ischemii vplyvom QCT. Signifikantne zvýšené hladiny parametrov FRAP a AOPP naznačujú pro-oxidačné pôsobenie QCT v starnúcom animálnom modeli. Zároveň sme však zaznamenali trend znižovania TBARS po podaní QCT, čo poukazuje na antioxidantné pôsobenie QCT. Podávanie QCT starnúcim jedincom významne znížilo expresiu PKC- ϵ , avšak neovplyvnilo expresiu ostatných proteínov zapojených do RISK signálnej dráhy a nemal vplyv ani na expresiu antioxidantných enzýmov SOD1 a SOD2. Napokon, naše výsledky odhalili signifikantný pokles pomeru Bax/Bcl-2, čo naznačuje zníženú mieru apoptózy u starších jedincov vplyvom QCT.

Záver: Naše výsledky naznačujú, že QCT nemá významný kardioprotektívny potenciál u jedincov vo vyššom veku, pričom jednou z možných príčin môže byť nedostatočná aktivácia RISK dráhy, ako aj nedostatočný/inhibovaný antioxidantný potenciál QCT u starnúcich jedincov. Na druhej strane, QCT má u starnúcich jedincov zachovaný antiapoptotický potenciál, ktorý však nie je spojený s benefičným účinkom na I/R poškodenie. Týmto sa javí podávanie QCT s cieľom kardioprotekcie vo vyššom veku ako neperspektívne.

Práca bola podporená grantmi: APVV-21-0194 a VEGA 2/0104/20.

VPLYV KYSELINY GYROFOROVEJ NA FYZIOLÓGIU LABORATÓRNYCH POTKANOV

Šimko P.¹, Urbanská N.¹, Leškaničová A.¹, Adamková P.¹, Blichárová A.², Žideková N.³, Kertys M.³, Kisková T.¹

¹Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Prírodovedecká fakulta, Ústav biologických a ekologických vied, Košice

²Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Lekárska fakulta, Ústav patológie, Košice

³Jeseniova Lekárska fakulta Univerzity Komenského, Martin

Úvod: kyselina gyroforová (GA) patrí k skupine sekundárnych metabolitov lišajníkov. Tieto látky chránia rastlinu pred stresom vyvolaným nepriaznivými vplyvmi okolia. GA sa radí medzi depsidy s popísanými antimykotickými, antiinflamačnými, cytostatickými, či protinádorovými vlastnosťami v systémoch in vitro. Vplyv GA na zdravý živý organizmus in vivo však doteraz skúmaný nebol. Cieľom našej štúdie bolo sledovať fyziologické zmeny, spojené so zmenami správania zdravých laboratórnych potkanov kmeňa Sprague-Dawley (SD) po podávaní GA. Materiál a metódy: experimentálnu vzorku tvorilo spolu 24 zvierat, ktoré sme rozdelili do štyroch skupín. Prvú a druhú skupinu

tvorili intaktné (INT) samce a samice, v každej skupine po šesť zvierat (INT♂ n=6 a INT♀ n=6). Tretiu a štvrtú skupinu tvorili samce a samice, ktorým sme vo veku dvoch mesiacov podávali GA v koncentrácii 10 mg/kg telesnej hmotnosti po dobu jedného mesiaca per os, v roztoku 10% etanolu (GA♂ n=6 a GA♀ n=6). Laboratórnym potkanom sme odoberali krv z chvostovej vény pred a po podávaní GA, teda vo veku dvoch a troch mesiacov, na následné vyšetrenia. Vo veku troch mesiacov sme laboratórne potkany podrobili behaviorálnemu testovaniu v dvoch základných typoch testov - test otvoreného poľa (OFT) a vyvýšený krížový labyrint (EPM). Výsledky: po podávaní GA sa objavili zvýšené hodnoty monocytov a granulocytov tak pri samcoch ako i pri samiciach ($p < 0.05^*$ a $p < 0.01^{**}$), avšak oba parametre boli aj napriek zmene v normohodnotách. Pozorovali sme i zvýšené hodnoty alanínaminotransferázy (ALT), kreatinínu a močoviny pri oboch pohlaviach v porovnaní s INT skupinami ($p < 0.05^*$ a $p < 0.01^{**}$), hoci zmeny sa nachádzali v rozmedzí normohodnôt. Zvýšené hodnoty ALT sa neprejavili klinicky – histologická analýza pečene nepreukázala zmeny. Z metabolomickej analýzy vyplýva, že GA pravdepodobne ovplyvňuje lipidový metabolizmus a účinkuje cez cyklus kyseliny močovej. V OFT sa po GA signifikantne zvýšil počet vztyčovaní u oboch pohlaví v porovnaní s INT skupinami ($p < 0.01^{**}$). V EPM sa potvrdil signifikantný rozdiel pri vztyčovaní pri oboch pohlaviach ($p < 0.05^*$ a $p < 0.01^{**}$). Okrem toho sme pozorovali zvýšenú frekvenciu prechodu cez stred labyrintu ($p < 0.001^{***}$ a $p < 0.01^{**}$) a predĺžený čas v otvorených ramenách aparatury ($p < 0.001^{***}$ a $p < 0.01^{**}$), či by mohlo poukazovať na možný anxiolytický účinok GA. Naša štúdia je prvá, ktorá skúmala vplyv GA na živý organizmus. Záver: z našich výsledkov vyplýva, že GA v koncentrácii 10 mg/kg nie je toxická, vykazuje charakteristiky možného antidepresantu, a preto je vhodným kandidátom k ďalšiemu výskumu v podmienkach in vivo.

Projekt bol finančne podporený vedeckou grantovou agentúrou VEGA (1/0658/20) a vnútorným grantovým vedeckým systémom PF UPJŠ (VVGs-PF-2022-2136).

PATERNITNÍ PODÁVÁNÍ METAMFETAMINU NEZPŮSOBUJE TAK ZÁVAŽNÉ NEGATIVNÍ ÚČINKY NA POTOMSTVO POTKANŮ BĚHEM VÝVOJE A V DOSPĚLOSTI JAKO PODÁVÁNÍ MATKÁM

Šlamberová R., Mihalčíková L., Bednaříková A.

Ústav fyziologie, 3. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha

Metamfetamin (MA) je jedním z nejméně zneužívaných psychostimulačních drog v České republice i ve světě. Předchozí studie prokázaly nepříznivé dlouhodobé účinky zneužívání drog potkaní matkou na její potomstvo. Nejasný je však podíl otce jako rodiče a dárce poloviny genetické informace. Cílem této studie bylo prozkoumat vliv podávání MA dospělým samcům laboratorního potkana na jejich sexuální chování a na vývoj a lokomoční aktivitu jejich potomků. MA nebo fyziologický roztok (SA) byly podávány dospělým samcům laboratorního potkana kmene Wistar v dávce 5 mg/kg (s.c.) denně po dobu 30 dnů. Nejprve byl zkoumán účinek MA na jejich sexuální chování a jejich spontánní lokomoční aktivitu v otevřené aréně (Laboras). Dále nás zajímal vliv paternitní aplikace MA na vývoj potkaních mláďat a na chování a lokomoční aktivitu dospělých potomků. Před testováním byli dospělí potomci vystaveni akutní stimulační dávce MA (1 mg/kg), abychom zjistili možný senzitivizační účinek paternitní aplikace MA. Zjistily jsme, že podávání MA neovlivňuje sexuální chování potkaních samců. Data

z Laboras ukázala, že expozice MA má významný vliv na pohybovou aktivitu pouze v případě akutní aplikace MA. Co se týče vlivu paternitní administrace na potomstvo, nebyly v dospělosti zjištěny žádné významné rozdíly ve vývoji chování nebo lokomoční aktivitě. Při srovnání rozdílů mezi pohlavími vykazovaly samice v dospělosti větší aktivitu než samci, zatímco samci byli aktivnější během vývoje. Závěrem lze říci, že na rozdíl od podávání MA potkaním matkám naše výsledky ukazují, že podávání MA potkaním otcům neovlivňuje chování jejich potomků během vývoje ani v dospělosti. Přestože naše studie neukazuje významné signifikantní výsledky, je jedinečná v tom, že jako první bere v potaz roli otce jako rodiče a dárce poloviny genetické informace na účinky MA na potomstvo laboratorních potkanů.

Finanční podpora: GAČR 21-30795S, Cooperatio Neurosciences, projekt PharmaBrain CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_025/0007444, 260533/SVV/2022.

VIZUÁLNÍ STIMULACE AKTIVUJE OSU HYPOTALAMUS-HYPOFÝZA-NADLEDVINY A NABÍZÍ MOŽNOST PRO MODULACI IMUNITNÍCH PROCESŮ

Štofková A.¹, Zloh M.¹, Hejda J.², Kutílek P.²

¹Ústav fyziologie, 3. lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Praha

²Fakulta biomedicínského inženýrství, České vysoké učení technické v Praze, Kladno

Úvod: Nervový a imunitní systém exprimují společný repertoár receptorů a ligandů, které mezi nimi umožňují obousměrnou komunikaci. Sítnice, která sdílí s centrálním nervovým systémem (CNS) stejný embryologický původ a mnoho anatomických a fyziologických charakteristik, se rovněž vyznačuje schopností takto interagovat s imunitním systémem. Na jedné straně je sítnice, stejně jako CNS, zranitelným cílem autoimunitního zánětu, ale na druhé straně může lokální nervová aktivita sítnice a CNS zasahovat do imunitní odpovědi. Cílem této studie bylo zjistit, zda sítnice kromě zapojení vlastních nervových okruhů může spolupracovat i s nervovými okruhy mozku a modulovat tak celkový průběh autoimunitního nitroočního zánětu. Vzhledem k tomu, že předchozí studie naznačují, že rychlé reakce živočichů na vizuální podněty (např. stín predátora) zahrnují aktivaci stresových mechanismů, základní hypotézou této studie bylo, že během vizuální stimulace se výstupní informace ze sítnice dostávají k neuronům paraventriculárního jádra hypotalamu (PVN) produkujícím kortikoliberin (CRH) a vedou k aktivaci osy hypotalamus-hypofýza-nadledviny (HPA), která je jedním z hlavních okruhů stresové reakce a jejíž nedílnou funkcí je i působení na imunitní systém prostřednictvím protizánětlivých účinků glukokortikoidů.

Metodika: Experimentální autoimunitní uveoretinitida (EAU) u myši byla použita jako model autoimunitního nitroočního zánětu a byla studována až do plného rozvoje klinických příznaků (14. den po imunizaci uveitogenním antigenem IRBP1-20). Vizuální stimulace byla prováděna formou každodenního sledování rotujících vysoce kontrastních pruhů v optomotorickém válci. Trasování nervových výstupů ze sítnice do PVN bylo provedeno pomocí markeru axonálního transportu, fluorescenčně značené podjednotky B cholery toxinu (CTB), podané bilaterálně intravitreální injekcí 13. den po imunizaci. 24 h po aplikaci CTB byla zvířata usmrcena a přítomnost CTB v CRH neuronech PVN byla analyzována imunohistochemicky. Rovněž byly měřeny hladiny hormonů HPA osy v séru a sítnici metodou ELISA. Úroveň nitroočního zánětu byla

hodnocena na základě klinického skóre EAU stanoveného pomocí fundoskopického vyšetření sítnice, počtu imunitních buněk infiltrovaných do sítnice měřených pomocí průtokové cytometrie a rychlosti optomotorické reakce myši.

Výsledky: Imunohistochemická analýza ukázala významnou lokalizaci CTB v CRH neuronech PVN u všech stimulovaných myši, jak kontrol, tak myši s EAU, ve srovnání s nestimulovanými myši. Zároveň vizuální stimulace signifikantně zvýšila sérové hladiny kortikotropinu (ACTH) a kortikosteronu. Podobně byla zvýšená i koncentrace kortikosteronu v sítnici stimulovaných myši. EAU myši stimulovaných i nestimulovaných skupin vykazovaly mírně vyšší hladiny ACTH a kortikosteronu v séru a také kortikosteronu v sítnici vůči zdravým kontrolám, přičemž nejvyšší hladiny daných hormonů byly pozorovány u stimulovaných EAU myši. Tyto výsledky korelovaly s daty analýzy nitroočního zánětu. Vizuálně stimulované EAU myši, u kterých byly detekovány vyšší hladiny kortikosteronu v sítnici, měly nižší hodnoty klinického skóre, nižší počty infiltrovaných leukocytů do sítnice a rychlejší reakce v optomotorickém testu zrakové ostrosti než nestimulované EAU myši.

Závěr: Výsledky této studie ukazují, že při vizuální stimulaci projekce ze sítnice aktivují CRH neurony PVN, čímž regulují osu HPA. Aktivace osy HPA přispívá ke zvýšené dostupnosti glukokortikoidů v sítnici a následnému útlumu nitroočního zánětu. Celkově tato zjištění podporují koncept interakcí zrakového systému se stresovými nervovými okruhy a zároveň nabízí možnost využití dráhy „sítnice – PVN“ pro modulaci imunitních procesů při zánětlivých onemocněních.

Práce byla podpořena projekty: Cooperatio Neurosciences a Cooperatio Medical Diagnostics and Basic Medical Sciences.

DIASTOLICKÁ FUNKCE SRDCE STANOVENÁ ECHOKARDIOGRAFICKY NEBO APLANAČNÍ TONOMETRIÍ U PACIENTŮ PO ANTRACYKLINOVÉ TERAPII

Šudáková M., Budínská X., Hrstková H., Nováková Z.

Fyziologický ústav Lékařské fakulty Masarykovy univerzity, Brno, Dispenzární onkologická ambulance FN U Sv. Anny, Brno

Úvod: Srdeční selhání je epidemií dnešní doby. Nezávisle na příčině jeho vzniku zde důležitou roli hraje diastolická dysfunkce. V běžné klinické praxi je k jejímu hodnocení využívána echokardiografie. Aplanační tonometrie je zase standardem pro měření rychlosti pulzové vlny a hodnocení cévní tuhosti. Antracyklinová antibiotika se používají pro léčbu onkologických onemocnění – nejčastěji akutní lymfoblastické leukémie, i přes svoji kardiotoxicitu. Cílem této studie bylo zjistit citlivost výše uvedených metod a jejich vhodnost pro hodnocení diastolické funkce srdce u skupiny pacientů po kardiotoxické léčbě.

Metody: Do studie bylo zahrnuto 92 osob (51 mužů, věkové rozmezí: 11-36 let) v minulosti léčených antracyklinovými antibiotiky s kumulativní dávkou doxorubicinu nebo daunorubicinu 220 (180 – 240) mg/m², cyklofosfamidu 3 000 (2 800 – 3 300) mg/m² nebo vinkristinu 12 (12-15) mg/m². Doba od ukončení léčby v době studie byla 6-30 let. Měření pulzové vlny probíhalo metodou aplanační tonometrie (Sphygmocor; AtCor Medical, Australia) na a. radialis dominantní ruky. Jeho výsledek byl následně korigován oscilometricky naměřeným krevním tlakem (Omron HEM-907-E, Japan). Transformace

na centrální tlak aorty proběhla pomocí systému SphygmoCor Px system. Z analýzy periferní pulzové vlny jsme získali hodnoty systolického tlaku (STK) a diastolického tlaku (DTK) a z analýzy centrální pulzové vlny parametry Tension-Time Index (TTI), Diastolic Time Index (DTI). Subendocardial Viability Ratio (SEVR) vyjadřuje poměr mezi TTI a DTI. Při echokardiografickém vyšetření (Nemio XG, TOSHIBA, Japonsko) jsme hodnotili následující parametry: vrcholovou rychlost toku krve do levé komory během pasivního plnění (E), vrcholovou rychlost toku krve do levé komory v čase kontrakce síní (A), poměr E/A, čas trvání izovolumické relaxace (IRT) a decelerační dobu pasivního plnění (DT). Ke statistické analýze jsme používali deskriptivní statistiku a Spearmanův korelační koeficient v programu Statistica 13.5.

Výsledky: Průměrné hodnoty vypočítané z analýzy pulzové vlny: STK =112±12 mmHg; DTK= 66±9 mmHg; TTI=1842±230; DTI= 2974±370; SEVR=165±29%. Průměrné hodnoty získané echokardiograficky: E=92±16 m/s; A=51±12 m/s; DT=164±29 ms; E/A=1,89±0,5; IRT=59±11 ms. Všechny průměrné naměřené hodnoty byly ve fyziologických mezích; IRT na jeho spodní hranici. Statisticky významnou korelaci jsme zjistili mezi IRT a DTI (r: 0,29; p < 0,05). Negativní korelace vyšla mezi A a SEVR (r: -0,277; p < 0,05) a pozitivně korelují také E/A a SEVR (r: 0,256; p < 0,05). V ostatních zjišťovaných parametrech jsme statisticky významnou korelaci nenašli. Rovněž jsme nenašli ani korelaci mezi parametry diastolické funkce s věkem nebo dobou od ukončení léčby.

Závěr: V současnosti má echokardiografie významné přední místo ve funkčním hodnocení srdce. Avšak nevýhodou tohoto měření je nemožnost zjistit počáteční stadia selhávání srdce tzn. ještě před dosažením strukturálních změn. Aplanační tonometrie umožňuje zachytit změny parametrů kardiovaskulárního systému na subklinické úrovni, ale celosvětově se využívá spíše jen ke zjišťování parametrů cévní tuhosti. Ze zjištěné korelace mezi echokardiografií a aplanační tonometrií můžeme předpokládat, že parametr SEVR je vhodný pro hodnocení diastolické funkce srdce. Toto zjištění by však bylo třeba ověřit ještě i u jiných skupin pacientů.

Podpořeno: Specifickým výzkumem LF MU: MUNI/A/1343/2022.

ROZDIELY V HLADINÁCH TAURÍNU, BETAÍNU A ĎALŠÍCH ORGANICKÝCH OSMOLYTOV V TKANIVÁCH LABORÁTORŇNYCH HLODAVCOV

Tomasova L.¹, Maksymiuk K.², Ufnal M.²

¹*Ústav klinického a translačného výskumu, Biomedicínske centrum SAV, v. v. i., Bratislava*

²*Oddelenie Experimentálnej Fyziológie a Patofyziológie, Univerzita medicíny vo Varšave*

Aminokyseliny ako taurín, betaín, alanín, beta alanín a sarkozín pomáhajú bunkám udržiavať stály objem pri zmenách osmotického tlaku. Avšak fyziologické hladiny a medzidruhová variabilita v koncentráciách týchto osmolytov v tkanivách laboratórnych zvierat nie je jasne stanovená. Preto sme si za cieľ zvolili skúmať hladiny týchto aminokyselín v organizme myši, potkanov a morských prasiat, keďže patria medzi najbežnejšie používané druhy v biomedicínskom výskume. Aminokyseliny sme kvantifikovali v plazme, moči a tkanivách laboratórnych zvierat pomocou kvapalinovej chromatografie spojenej s hmotnostnou spektrometriou. Hladiny taurínu v organizme boli najvyššie spomedzi meraných aminokyselín. Veľkosť laboratórnych zvierat negatívne korelovala s hladinami taurínu v plazme, moči a tkanivách. Najvyššie koncentrácie

taurínu boli namerané v srdci hlodavcov. Hladiny betaínu boli vyššie v dreňi obličiek, ale nižšie v kôre obličiek a pečeni morských prasiat v porovnaní s myšami a potkanmi. Ďalej sme zaznamenali signifikantné rozdiely medzi druhmi laboratórných hlodavcov v hladinách glycínu, alanínu, beta alanínu a sarkozínu v moči a tkanivách, čo naznačuje medzidruhovú variabilitu vo využití týchto aminokyselín. Tieto výsledky by mali byť zohľadnené pri výbere dávky a interpretácii dát preklinických štúdií využívajúcich modely laboratórných hlodavcov.

Tento výskum bol podporený Vedeckou grantovou agentúrou MŠVVaŠ SR a SAV (číslo grantu VEGA/2/0066/23) a Agentúrou na podporu výskumu a vývoja (číslo grantu APVV-19-0154)

MANIFESTATION OF SYMPATHOADRENERGIC ACTIVITY IN MESENTERIC ARTERIES OF RATS WITH DIFFERENT PREDISPOSITION TO OBESITY: EFFECT OF PERIVASCULAR ADIPOSE TISSUE

Török J., Zemančíková A., Bališ P.

Institute of Normal and Pathological Physiology, Centre of Experimental Medicine, Slovak Academy of Sciences, Bratislava

Aim: The study was aimed on the specific function of mesenteric perivascular adipose tissue in rats with different genetic predisposition to obesity – in healthy Wistar-Kyoto rats treated with high-fat diet (45 % fat), and in Zucker Diabetic Fatty (ZDF; fa/fa) rats.

Methods: The sympathoadrenergic contractions were registered in isolated superior mesenteric arteries with focus on the modulatory effect of mesenteric perivascular adipose tissue (PVAT). Paired rings of isolated rat superior mesenteric arteries with preserved and removed PVAT were prepared and connected to a force-displacement transducer for recording of isometric tension. The adrenergic contractile responses were elicited by both, the exogenous noradrenaline and the endogenous noradrenaline released during electrical stimulation of perivascular sympathetic nerves.

Results: The obtained results demonstrated that in ZDF rats with fully developed metabolic syndrome, preserving PVAT on arterial surface caused considerable anticontractile effect leading to a significant reduction in adrenergic contractions of mesenteric arteries, which might result in specifically increased perfusion of mesenteric vascular bed in this obese, hyperphagic rat model. In contrast, in healthy Wistar-Kyoto rats administered high-fat diet, along with the increase in body adiposity, the significant rise in sympathetic activity in mesenteric PVAT occurred, which was manifested by higher contractile responses to adrenergic stimulation in arterial preparations with preserved perivascular fat.

Conclusion: These results indicate that during the progressive development of metabolic syndrome in healthy rats, in their mesenteric region, the primary augmentative changes in sympathetic activity develop in mesenteric PVAT, while in genetically obese rats with fully manifested metabolic syndrome, mesenteric PVAT attenuates the excessive sympathetic activity and enables the increased dilatation of mesenteric arteries, e.g., after food ingestion. The possible participation of local sensoric nerves in anticontractile effect of mesenteric PVAT is under consideration.

The study was funded by the grants VEGA No. 2/0156/21 and 2/0153/21.

VARIABILITA DYCHOVÉHO VZORU U MLADÝCH OBÉZNYCH PACIENTOV

Turianikova Z.¹, Czippelová B.¹, Čerňanová Krohová J.¹, Kuricová M.², Javorka M.¹

¹Martinské centrum pre biomedicínu, Jesseniova lekárska fakulta UK v Martine

²Národný endokrinologický a diabetologický ústav, n.o., Ľubochňa

Úvod: Dychový vzor predstavuje spôsob kombinácie zmien dychových parametrov – frekvencia dýchania, dychový objem, trvanie inšpiria a expíria a ich vzájomný pomer – s cieľom udržania efektivity ventilácie pri meniacich sa vonkajších podmienkach. Hoci dýchanie na prvý pohľad pripomína periodický dej, aj pokojové dýchanie preukazuje jemné zmeny v dychových parametroch od jedného dychu k nasledujúcemu – tzv. „breath-to-breath“ variabilitu. Zmeny variability dychového vzoru boli pozorované najmä v súvislosti s rôznymi respiračnými ochoreniami spojenými predovšetkým s reštrikčnou aj obštrukčnou ventilačnou poruchou. Je známe, že nadmerné množstvo tuku v oblasti hrudníka a brucha má vplyv na mechanické vlastnosti pľúc a hrudníka, vedúce k zníženiu poddajnosti respiračného systému a mohlo by významne zmeniť dychový vzor u obéznych jedincov. Na rozdiel od hodnotenia spirometrických parametrov existuje len málo štúdií, ktoré sa zaoberali sledovaním zmien spontánneho dychového vzoru u obéznych dospelých pacientov. Tieto informácie ešte viac absentujú v detskej a adolescentnej populácii.

Cieľ: Cieľom našej práce bolo hodnotiť zmeny dychového vzoru u mladých obéznych pacientov počas rôznych fyziologických stavov v porovnaní s kontrolnou skupinou s normálnou hmotnosťou.

metodika: Do štúdie bolo zaradených 102 probandov – 51 obéznych a 51 kontrolných subjektov s priemerným vekom 17,6 rokov. Respiračné parametre – dychový objem, trvanie inšpiria a expíria a celkové trvanie dychového cyklu sme monitorovali metódou respiračnej indukčnej pletyzmografie (prístroj RespiTrace) počas 5 fáz (v pokoji v ľahu, pri sklopení do 45° na sklopnom stole, zotavovacia fáza v ľahu, mentálna aritmetika, zotavovacia fáza v ľahu). Okrem priemernej hodnoty sledovaných respiračných parametrov sme hodnotili aj veľkosť ich variability pomocou smerodajnej odchýlky (SD) a variačného koeficientu (CV).

Výsledky: V našej štúdii sme pozorovali signifikantne zvýšený pomer Ti/Te vo všetkých troch pokojových fázach u obéznych probandov. Dychový objem bol v skupine obéznych pacientov signifikantne nižší v porovnaní s kontrolnou skupinou. Pri hodnotení variability respiračných parametrov sme pozorovali vzostup vo variabilite Ti/Te v oboch zotavovacích aj stresových fázach u obéznych probandov.

Záver: Je zrejmé, že obezita ovplyvňuje ako trvanie inšpiria, tak aj expíria. V našej práci sme preukázali určité zmeny dychového vzoru u obéznych pacientov už v mladom veku. Parameter Ti/Te bol schopný najlepšie odlíšiť skupinu obéznych pacientov od kontrolnej skupiny. Vyšší pomer trvania inšpiria ku trvaniu expíria by mohol poukazovať na zhoršenie funkcie dýchacích svalov, mechaniky dýchania a zvýšenie svalovej práce u obéznych pacientov. Hodnotenie dychového vzoru a jeho variability má potenciál pomôcť včas odhaliť obéznych pacientov so zvýšeným rizikom vzniku hypoventilačného syndrómu pri obezite.

Kľúčové slová: obezita, dychový vzor, variabilita.

KYSELINA GYROFOROVÁ, SEKUNDÁRNY METABOLIT LIŠAJNÍKOV, PŔOSOBÍ AKO ANTIOXIDANT A STIMULUJE HIPOKAMPÁLNE PROGENITORY POČAS DEPRESII PODOBNÝCH STAVOV LABORÁTORŇNYCH POTKANOV

Urbanská N.¹, Šimko P.¹, Leškaničová A.¹, Jendželovský R.¹, Jendželovská Z.¹, Majerová P.², Kováč A.², Kisková T.¹

¹Ústav biologických a ekologických vied, Prírodovedecká fakulta Univerzity Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Košice

²Neuroimunologický ústav Slovenskej akadémie vied, Bratislava

Úvod: Kyselina gyroforová (GA) patrí medzi sekundárne metabolity lišajníkov. Cieľom našej štúdie bolo skúmať účinky GA na proliferáciu aktívne bunky hipokampu a správanie asociované s depresiou podobnými stavmi laboratórnych zvierat. Materiál a metódy: Prechod cez hematoencefalickú bariéru (BBB) bol analyzovaný na mozgových mikrovaskulárnych endoteliálnych bunkách (BMEC) izolovaných z potkanov kmeňa Sprague Dawley. V in vivo experimente bolo použitých 30 samcov kmeňa Wistar, rozdelených do troch skupín. Prvá skupina bola kontrolná (n=10), druhá (n=10) a tretej (n=10) skupine boli opakovaným imobilizačným stresom vyvolané depresie podobné stavy. Druhá skupina ostala neliečená a tretej skupine bol po dobu 30 dní denne podávaný roztok GA (10 mg/kg telesnej hmotnosti). Správanie zvierat sa testovalo vo zvýšenom krížovom labyrinte (EPM) a v teste otvoreného poľa (OFT). Výsledky: Naše predbežné výsledky ukazujú, že vďaka svojej polyfenolovej štruktúre je GA antioxidantom, keďže výrazne znížila hladiny reaktívnych foriem kyslíka (ROS) v lymfocytoch ($P < 0,01$) v porovnaní s kontrolnou skupinou. GA zvýšila počet Ki-67 pozitívnych proliferujúcich buniek v oblasti hilus hipokampu ($P < 0,01$) a počet zrelých NeuN pozitívnych neurónov v oblasti CA1 hipokampu ($P < 0,01$). V teste EPM sme pozorovali u zvierat s aplikovanou GA výrazne predĺžený čas strávený v otvorených ramenách aparatury ($P < 0,001$) v porovnaní s neliečenou skupinou, čo naznačuje potenciálny efekt GA na anxiétu či depresiu. Záver: Zmeny v mozgových štruktúrach by mohli byť pravdepodobne vyvolané priamym pôsobením GA v mozgu, keďže GA môže prechádzať cez BBB, ako sa ukázalo v teste permeability. Naše výsledky prvýkrát demonštrujú potenciálne antidepresívne účinky GA na hipokampus a správanie potkanov.

Práca bola finančne podporená vedeckou grantovou agentúrou APVV (APVV-21-0321), VEGA (1/0658/20) a vnútorným grantovým vedeckým systémom PF UPJŠ (VVGs-PF-2022-2136).

VPLYV TRIMETYLCÍNU A HANDLOVANIA NA NA,K-ATPÁZU V MOZGOVEJ KÔRE POTKANOV

Šnúriková D., Kaločajová B., Michalíková D., Ujházy E., Gasparová Z., Vrbjar N., Vlkovičová J.

Centrum experimentálnej medicíny SAV, v. v. i, Bratislava

Úvod: Experimentálny model neurodegenerácie, ktorá má podobné znaky ako Alzheimerova choroba u ľudí, sme navodili pôsobením chemickej organocínovej zlúčeniny trimetylcínu (TMT), ktorá vplýva na selektívny zánik nervových buniek

v špecifických oblastiach mozgu. Priebeh neurologického ochorenia býva často ovplyvňovaný faktormi prostredia a sociálnymi podmienkami, preto sme sa v tejto štúdii zamerali na vplyv handlovania zvierat (10 min/denne), a či ovplyvňuje enzým Na,K-ATPázu, ktorý je dôležitý pre správne šírenie nervového impulzu, keďže obnovuje východiskové koncentrácie iónov Na⁺ a K⁺ po každom cykle akčného potenciálu.

Metódy: Skúmali sme využitie ATP, ako zdroja energie na transport iónov, a to pomocou metódy enzýmovej kinetiky vo vzorkách získaných z ľavej frontálnej kôry mozgu dospelých samcov potkanov kmeňa Wistar. Denná manipulácia so zdravými potkanmi, ako aj s potkanmi s TMT-vyvolanou neurodegeneráciou (7,5 mg/kg, v 60-102 postnatálnych dňoch), mala pozitívny vplyv na priestorovú pamäť skúmaných zvierat.

Výsledky: Z daných faktorov (TMT a handlovanie) malo na expresiu katalytických α -podjednotiek vo frontálnej kôre mozgu väčší vplyv handlovanie ako trimetylcín. Handlovanie vo všetkých prípadoch viedlo k nárastu expresie, v prípade $\alpha 1$ podjednotiek sa jeho vplyv prejavil v menšej miere, a naopak výrazne signifikantne pri $\alpha 2$ a $\alpha 3$ podjednotkách Na,K-ATPázy. Izoforma $\alpha 2$ je pritom typická pre gliové bunky a $\alpha 3$ je zase špecifická pre neuróny. U zdravých potkanov sa manipuláciou podporila najmä expresia $\alpha 3$ podjednotky. Okrem toho, v oboch handlovaných skupinách došlo k zvýšeniu afinity enzýmu k ATP (nižšie hodnoty K_m), čo poukazuje na výrazné zlepšenie schopnosti enzýmu viazať a využívať energetický substrát ATP na transport iónov, bez ovplyvnenia rýchlosti enzýmovej reakcie (nezmenené hodnoty V_{max}).

Záver: Naša práca poukazuje, že handlovanie má pozitívny vplyv na funkčnosť sodíkovo-draslíkovej pumpy ako aj na expresiu katalytických podjednotiek Na,K-ATPázy vo frontálnej kôre mozgu u kontrolných zdravých zvierat, ako aj u potkanov s neurodegeneratívnym poškodením mozgu.

Práca bola podporená z grantov: VEGA-2/0018/23, VEGA 2/0148/22.

**congress
prague**

NA CELNÉ 826/8

150 00 PRAHA 5

ČESKÁ REPUBLIKA

TEL.: +420 241 445 759, +420 241 445 813, +420 241 445 815

E-MAIL: OFFICE@CONGRESSPRAGUE.CZ

WEB: WWW.CONGRESSPRAGUE.CZ