



**Zborník abstraktov
z 93. Fyziologických dní
31. 1. – 2. 2. 2017
Košice, Slovenská republika**



Lekárska fakulta, Univerzita P. J. Šafárika v Košiciach

Slovenská fyziologická spoločnosť

Česká fyziologická spoločnosť

Neurobiologický ústav SAV

UNIVERSUM
2 0 1 7

Sponzori podujatia:

ZAPARKUJ • ZAZVOŇ • PODAJ RECEPT • VEZMI LIEKY • ŠŤASTNÚ CESTU



**LIEKY PRIAMO DO
POHODLIA VÁŠHO AUTA**

PONDELOK - PIATOK OD 7:30 DO 18:00

LEKÁREŇ RONDO DRIVE IN, WERFEROVA 3, KOŠICE

TEL.: 055/ 285 00 39



Zborník abstraktov z 93. Fyziologických dní

Zostavil: **Doc. RNDr. Pavol Švorc, CSc.**
 Ing. Martin Kundrík

Textová a jazyková redakcia: autori príspevkov

© Pavol Švorc a Martin Kundrík (zostavovatelia)

© Autori jednotlivých príspevkov

Pre Lekársku fakultu UPJŠ v Košiciach vydalo vydavateľstvo UNIVERSUM-EU, s. r. o.

UNIVERSUM-EU, s. r. o., Javorinská 26, 080 01 Prešov

www.universum-eu.sk

Prešov – Košice 2017

ISBN 978-80-89046-98-0

ZMENY PROLIFERÁCIE A APOPTÓZY OOCYTOV PRASNIČIEK PO SKRMOVANÍ ZDRAVIU PROSPEŠNÝCH MIKROORGANIZMOV A ĽANOVÉHO SEMENA

Andrejčáková Z., Sopková D., Vlčková R., Petrilla V., Ondrašovičová S.

Ústav fyziológie, Katedra anatómie, histológie a fyziológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, 041 81 Košice, Slovenská republika

Úvod: Pokrok v oblasti reprodukčnej biológie, biotechnológie, asistovanej reprodukcie, v humánnej a veterinárnej medicíne je založený na nových poznatkoch v oblasti regulátorov reprodukčných procesov. Probiotiká majú schopnosť regulácie črevnej mikrobiálnej homeostázy, majú imunomodulačný efekt, a inhibujú schopnosť patogénov kolonizovať a infikovať sliznicu. Probiotický efekt potencujú prebiotiká väčšinou rastlinného pôvodu, medzi ktoré patrí ľanové semeno (tzv. „synbiotiká“). Existuje málo štúdií zameraných na skúmanie účinku spomínaných aditív na proliferáciu a apoptózu zárodočných buniek a oocytov. Proapoptotický a antiproliferačný účinok ľanu bol pozorovaný in vitro na rakovinových bunkách, bunkách granulózy a tekálnych bunkách a na potkaních vaječníkoch. Synergické použitie naturálnych látok je stále aktuálnou problematikou v súvislosti s reprodukčným zdravím zvierat a ľudí. Preto sme v tomto experimente použili prasničky z problematického chovu pre štúdium vplyvu synbiotík na proliferáciu a apoptózu oocytov.

Metodika: Bolo použitých 36 odstavciat (Slovenská biela ušľachtilá x Landras). Skupina LMK (n=18) – aplikované probiotické syry (*Lactobacillus plantarum* a *Lactobacillus fermentum*, 4g/ks/deň z každého syra) a šrotované ľanové semeno (10%); kontrolná skupina (K, n=18) – aplikovaný kontrolný syr (8g/ks/deň). Zvieratá boli kŕmené OŠ- 02 a vodou ad libitum. V chove dokázaná prítomnosť hemolytickej *E.coli* a Coronavírusu. Ovária – odoberané v deň odstavu (n=6), na 7. deň (n=6) a na 14. deň (n=6) po odstave. Imunohistochemické rezy – deparafinované, rehydratované, aplikované protilátky proliferácie (Cyclin B1) a apoptózy (Bax). Reakcia bola vizualizovaná diaminobenzidínom. Fotografie vyhotovené pomocou mikroskopu a počítača. Výsledky boli navzájom porovnané jednocestným ANOVA testom.

Výsledky: U zvierat s prídavkom synbiotík sme zaznamenali výrazné zníženie hodnoty ROD (relative optical density) u Cyclinu B1 ($P < 0,01$; $P < 0,001$) ale zvýšenie hodnoty ROD markeru Bax ($P < 0,01$; $P < 0,001$). Kontrolná skupina vykazovala v oboch parametroch opačný trend.

Záver: Naše výsledky poukazujú na to, že ľanové semeno potencujúce účinok probiotík má modulačný vplyv na proliferáciu a apoptózu ovárii prasničiek z problematického chovu.

Práca bola podporená grantami VEGA č. 1/0476/16 a IGA č. 15/2016.

FUNCTIONAL CONSEQUENCES OF ALTERED NEUROGENESIS IN THE RAT OLFACTORY SYSTEM

Arnoulová P., Martončíková M., Angelidis A., Závodská M., Račková E.

Neurobiologický Ústav SAV, Šoltésovej 4-6, Košice, Slovenská republika

Introduction: New neurons in the brain are generated during postnatal neurogenesis. Neurogenesis is regulated by many physiological factors but it can be also influenced by environmental cues. Several studies aimed to describe exact mechanisms of how the factors influence neurogenesis since dysregulation of neurogenesis is responsible for developing several diseases of the CNS including neurodegenerative diseases, epilepsy or depression. The aim of this work was to investigate the influence and functional consequences of neonatal stress – maternal separation on postnatal neurogenesis in the rostral migratory stream (RMS) of adult rats.

Materials and methods: Rat pups were separated from their dam for 3 hours daily during the first postnatal week. After finishing the maternal separation, the animals were allowed to survive until adulthood, when we have analyzed such forms of behavior that parallel the early, premotor symptoms of neurodegenerative diseases. After finishing the behavioral testing, the brains of animals were processed for histological examination. Proliferating cells were labelled by the marker of proliferation – Ki-67; dying cells were visualized by Fluoro-Jade C histochemistry.

Results: The results of emergence and elevated plus-maze tests showed increased anxiety-like behavior in maternally separated animals. Quantitative analysis of dividing cells number revealed the significant decrease of these cells within the RMS of separated animals in comparison with the control rats of the same age. Contrary, maternal separation induced an increase in the number of dying cells within the migratory pathway.

Conclusion: The obtained results demonstrate the long-lasting effect of maternal separation on cell proliferation and cell dying within the RMS in correlation with changes in anxiety-like behaviour. These findings indicate that neonatal stress can lead to the development of stress-related diseases.

Supported by the VEGA grants 2/0069/15; 2/0179/14

VZŤAH MEDZI HLADINAMI KALPROTEKTÍNU V STOLICI A BEHAVIORÁLNymi UKAZOVATELMIV SÚBORE OSÔB S AUTIZMOM

Babinská K.¹, Babková J.¹, Filčíková D.¹, Pivovarčiová A.^{1,2}, Tomova A.¹, Kubranská A.¹,
Čelušáková H.¹, Vokálová L.¹, Ostatníková D.¹

¹Fyziologický ústav, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského, Akademické centrum výskumu autizmu, Bratislava, Slovenská republika, ²University of Birmingham, Institute of Clinical Sciences, Birmingham, United Kingdom

Úvod: Autizmus je neurovývinové ochorenie definované poruchou sociálnej interakcie, verbálnej a neverbálnej komunikácie a obmedzeným, stereotypným správaním a záujmami. Etiológia autizmu nie je známa, poznatky poukazujú, že môže ísť o systémovú poruchu, kde spoločným menovateľom je chronický zápal nízkeho stupňa. Pri autizme bol pozorovaný aj zápal črevnej sliznice, pričom sa predpokladá, že zápalové zmeny, sprevádzané dysbiózou a zvýšenou intestinálnou permeabilitou ovplyvňujú neurohumorálnou cestou procesy v CNS a podieľajú sa na vzniku behaviorálnych prejavov autizmu. Fekálny kalprotektín je zápalový marker, ktorého koncentrácia v stolici poukazuje na rozsah zápalového procesu v čreve. Cieľom štúdie bola analýza vzťahu medzi behaviorálnymi príznakmi a hladinami kalprotektínu v stolici, ako aj gastrointestinálnou dysfunkciou v súbore osôb s autizmom.

Metodika: Súbor tvorilo 158 probandov (21 dievčat, 137 chlapcov) s klasickým autizmom vo veku 2-24 rokov, priemerný vek $8,1 \pm 4,6$ (x \pm s.d.). Miera autistických čít bola stanovená diagnostickými testami ADOS-2 a ADI-R. Hodnoty kalprotektínu v stolici boli stanovené ELISA metódou. Príznaky gastrointestinálnej (GI) dysfunkcie boli zisťované dotazníkom.

Výsledky: Viaceré kategórie diagnostického testu ADIR, reprezentujúce jadrové príznaky autizmu signifikantne korelovali s hladinami kalprotektínu v stolici: kvalitatívne abnormality v recipročnej sociálnej interakcií ($r=0,28$, $p<0,05$), kvalitatívne abnormality v komunikácií ($r=0,38$, $p<0,001$), obmedzené, repetitívne a stereotypné vzorce správania ($r=0,36$, $p<0,001$). V skupine osôb so závažnejšou formou gastrointestinálnej dysfunkcie sme pozorovali vyššie hladiny fekálneho kalprotektínu, rozdiel však nebol signifikantný. Nepreukázali sa signifikantné vzťahy medzi kategóriami diagnostického testu ADOS-2 a koncentráciou kalprotektínu ani príznakmi GI dysfunkcie.

Záver: Zistené korelácie medzi hladinou fekálneho kalprotektínu a behaviorálnymi markermi naznačujú na možnú úlohu črevného zápalu v patomechanizmoch autizmu. Objasnenie vzťahu medzi hladinami kalprotektínu v stolici a GI dysfunkciou si vyžaduje ďalšie analýzy.

Podporené grantmi APVV 15-0085, APVV 0254-11

THE EFFECT OF OSCILLATING ELECTRIC FIELD ON THE REGENERATION AND FUNCTIONAL RECOVERY OF INJURED SPINAL CORD IN THE RAT.

Báčová M., Gálik J.,

Institute of Neurobiology, Slovak Academy of Science, Košice

Introduction: Traumatic spinal cord injury causes partial or total loss of sensitive and motor functions. Therefore it belongs to the injuries with the greatest impact on the physical, and also on the mental health of the patients. Despite enormous efforts, there is no effective treatment that would improve neurological status of the patients. In our experiments, we tested possibilities of therapeutic application of a weak electric current (50 μ A) over the site of spinal cord injury in rats.

Methods: Adults Wistar albino rats were used in these experiments. The spinal cord injury was performed under the general anesthesia by the compression device at the level of Th9 segments with the weight of 40g for 15minutes. To apply weak electrical current, the miniature and implantable oscillating field (OSF) stimulator was used, which was specially designed in our laboratory. OSF stimulator reverses polarity of electrical field every 15 minutes during the period of 6 weeks. Electrical circuits of OSF stimulator were insulated with special biocompatible silicone-based material. Implanted stimulator delivered current to the injured spinal cord by means of two Ir/Pt electrodes that were inserted into the epidural space two segments cranial and caudal from the Th9 segment. Electrodes and OSF stimulator were sutured to the paravertebral muscles. Experimental animals were divided into three groups: 1) intact animals with implanted OSF, 2) the animals with spinal cord injury, 3) spinal cord injured animals with implanted OSF. After 28 days, animals with implanted stimulator were perfused and the spinal tissue was used for immunohistological and histological analysis. The first phase of our research - testing of biocompatibility, functionality and safety of implanted stimulators was completed. The second phase, which involves experiments with spinal cord injury, is still in progress.

Results: In the control group of intact animals we observed, that OSF implantation does not induce an inflammatory reaction or necrosis of the surrounding tissue, and does not present a risk or any restriction for the animals.

Conclusion: Based on preliminary results, we can confirm that the implantation of OSF represents suitable, safe and stable methods that, in the context of combination therapy, could effectively help in the regeneration and functional restoration after nerve tissue damage.

Supported by VEGA grant No.2/0160/16; APVV grant No. 15/0766

PATOFYZIOLÓGIA A DIAGNOSTIKA INFARKTU MYOKARDU, PĽÚCNEJ EMBÓLIE A AKÚTNEJ PANKREATITÍDY AKO ŽIVOT OHROZUJÚCICH OCHORENÍ PREJAVUJÚCICH SA BOLEŠŤOU NA HRUDNÍKU

Bačová I., Švorc P., Gáborová M., Grešová S., Štimmelová J., Peregrim I., Donič V.

Ústav lekárskej fyziológie, Lekárska fakulta UPJŠ Košice, Slovenská republika

Úvod: Diferenciálna diagnostika bolesti na hrudníku je jedným zo základných diagnostických postupov v klinickej praxi. Na jej správne určenie je nevyhnutné poznať patofyziologický základ mnohých ochorení a následne vedieť rozhodnúť o rýchlej diagnostike. Príčinou bolesti na hrudníku môžu byť kardiálne, pľúcne, gastrointestinálne, vertebrogénne, psychosomatické a iné ochorenia. Medzi najčastejšie príčiny bolesti na hrudníku patria kardiálne, gastrointestinálne a muskuloskeletálne ochorenia.

Metodika: Spracovanie a analýza súčasnej domácej a zahraničnej literatúry v oblasti patofyziológie a diagnostiky infarktu myokardu, pľúcnej embólie a akútnej pankreatitídy, život ohrozujúcich ochorení prejavujúcich sa bolesťou na hrudníku. Údaje sme upravili do tabuľky ako pomôcku pre prehľadnú a rýchlu orientáciu v daných diagnózach.

Výsledky: Patofyziologicko-diagnostická tabuľka zaoberajúca sa spomínanými nozologickými jednotkami. Vďaka tejto tabuľke sa môže lekár rýchlo zorientovať v patofyziológii a v diagnostickom postupe pri podozrení na infarkt myokardu, pľúcnu embóliu a akútnu pankreatitídu.

Záver: Z nášho prehľadu vyplýva, že pri stanovení správnej diagnózy je veľmi dôležité poznať patofyziologický podklad a klinický obraz ochorení. Na základe klinických skúseností a dôsledného vyšetrenia pacienta je dôležité vedieť diagnózu stanoviť a pomocou EKG, laboratórnych vyšetrení a zobrazovacích metód diagnózu potvrdiť. Touto prácou sme chceli poukázať na skutočnosť, že dnešným problémom v diagnostike často býva nadhodnotenie alebo podhodnotenie určitej diagnózy, ba až diagnostický omyl. Pľúcna embólia je po infarkte myokardu treťou najčastejšou kardiovaskulárnou príčinou smrti. Je často klinicky nemá, diagnóza nemusí byť vždy jasná ani pri masívnej embólii a diagnostické omyly sa vyskytujú až v 50-tich % prípadov.

ÚLOHA VÁPNIKA V OXYTOCÍNOM INDUKOVANOM PREDLŽOVANÍ NEURITOV

Bačová Z.¹, Zaťková M.^{1,2}, Reichová A.¹, Bakoš J.^{1,2}

¹*Biomedicínske centrum, Ústav experimentálnej endokrinológie SAV, Bratislava, Slovenská republik, a* ²*Fyziologický ústav, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava, Slovenská republika*

Úvod: Reorganizácia cytoskeletu počas diferenciácie neuronálnych buniek ako aj pri zmenách synaptických spojení je dej vysoko závislý na zmenách vnútrobunkového vápnika. V našich predchádzajúcich štúdiách sme dokázali, že oxytocín má diferenciačné účinky na bunkovej línii SH-SY5Y. Je známe, že po naviazaní na oxytocínový receptor sa koncentrácia vnútrobunkového vápnika zvyšuje, nie je však jasné, ktoré vápnikové kanály sú zodpovedné za toto zvýšenie, a ktorých zapojenie je nevyhnutné pre zmeny morfológie neuronálnych buniek.

Metodika: Bunky SH-SY5Y boli vystavené 48 hodinovému pôsobeniu oxytocínu v prítomnosti rôznych inhibítorov vápnikových kanálov, resp. vnútrobunkového chelátora BAPTA/AM. Zmeny morfológie a predlžovanie výbežkov sme merali po farbení aktínu pomocou faloidínu a jadra pomocou DAPI s použitím fluorescenčného mikroskopu a softvéru ImageJ. Zmeny vnútrobunového vápnika boli sledované pomocou FURA 2/AM v prítomnosti oxytocínu a jednotlivých inhibítorov kanálov.

Výsledky: Všetky použité inhibítory zabránili zvýšeniu intracelulárneho vápnika navodeného oxytocínom. Najvyšší pokles bol dosiahnutý použitím vnútrobunkového chelátora BAPTA/AM. Pokles vútrobunkového vápnika v prítomnosti BAPTA/AM a zablokovanie P-typu vápnikových kanálov pomocou agatoxínu znemožnilo predlžovanie výbežkov neuronálnych buniek.

Záver: Zmeny v koncentrácii vnútrobunkového vápnika hrajú dôležitú úlohu v oxytocínovej signalizácii na ktorej konci je zmena morfológie neuronálnych buniek.

Práca bola podporená grantami: APVV-15-0205, VEGA 2/0119/15 a VEGA 2/0016/16.

NEUROENDOKRINNÁ REGULÁCIA NEURITOGÉNÉZY

Bakoš J.^{1,2}, Lešťanová Z.¹, Havránek T.¹, Zaťková M.^{1,2}, Reichová Z.¹, Bačová Z.^{1,3}

¹Ústav experimentálnej experimentálnej endokrinológie, Biomedicínske centrum, SAV;

²Fyziologický ústav, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského; ³Ústav patologickej fyziológie LF, SZU, Bratislava, Slovenská republika

Úvod: Vývin mozgu, tvorba neuronálnych buniek a ich spojení je komplexne a zložito regulovaná. V posledných rokoch mnohé štúdie preukázali, že neuroendokrinná kontrola a najmä neurohormóny oxytocín a vazopresín a ich receptory majú nezastupiteľnú úlohu v regulácii neurogenézy, diferenciácii buniek, modulujú excitabilitu membrán a majú aj štruktúrne účinky na cytoskeletové a skafoldové proteíny. V našich predchádzajúcich aj súčasných štúdiách sa snažíme o poskytnutie celkového obrazu o dôsledkoch aktivácie oxytocínových receptorov in vitro na neuroblastómové a glioblastómové bunky ako aj primárne izolované neuróny.

Metodika: Bunkové modely používame na porozumenie mechanizmom zmien rastu neuritov a ich spojení pod vplyvom aktivácie/blokovania oxytocínových a vazopresínových receptorov. Prezentovaný prehľad problematiky je založený na porovnaní vlastných štúdií dôsledkov vyradenia oxytocínového receptora, skafoldového proteínu SHANK3 a ich interakcií.

Záver: Preukázali sme, že rast neuritov je možné ovplyvniť blokovaním oxytocínového receptora. Navyše je rast neuritov sprevádzaný nárastom génovej a proteínovej expzie niektorých neurofilamentov a na aktín sa viažúcich proteínov. Inkubácia neuroblastómových buniek s oxytocínom viedla k zvýšeniu hladín skafoldových proteínov SHANK1-3, pričom antagonist oxytocínových receptorov L-371-257 tento nárast blokoval. Napriek limitáciám in vitro štúdií je veľmi pravdepodobné, že počet oxytocínových a vazopresínových receptorov, ich vzájomný pomer prípadne aktivita ovplyvňujú vývinové procesy, remodeláciu neuronálneho cytoskeletu a rast neuritov.

Práca bola podporená grantami: APVV-15-0045, APVV-15-0205, VEGA 2/0119/15 a VEGA 2/0016/16.

VPLYV TROCH TYPOV ŠETRIACEJ VENTILÁCIE NA NIEKTORÉ MARKERY POŠKODENIA A APOPTÓZY PĽÚC U KRÁLIKOV S EXPERIMENTÁLNYM SYNDRÓMOM ASPIRÁCIE MEKÓNIA

Báľentová S.¹, Mokr D.², Košútová P.², Mikolka P.², Adamkov M.¹, Kolomazník M.², alkovsk A.²

¹stav histológie a embryológie, ²Martinsk centrum pre biomedicínu (BioMed) a stav fyziológie, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského, Martin, Slovenská republika

vod: Aspirácia mekónia do pľúc vedie k poškodeniu a zvyšenej apoptóze epitelových buniek pľúc a tiež k zvyšenej permeabilite cez alveolokapilrnu membránu. K dalšiemu poškodeniu pľúc mže dôjsť v dsledku neprimeranej ventilácie. Cieľom tejto štúdie bolo porovnať efekt troch typov šetriacej nzkoobjemovej ventilácie na niektor markery poškodenia a apoptózy epitelových buniek pľúc u zvierat s experimentálne navodenm syndrómom aspirácie mekónia (MAS).

Metodika: Model MAS sme navodili i.t. podaním novorodeneckého mekónia (25 mg/ml, 4 ml/kg) králikom. Po vytvoren respiranho zlyhávania sme zvieratá ventilovali konvenčnou mechanickou ventiláciou (CMV), vysokofrekvenčnou oscilačnou ventiláciou (HFOV) alebo vysokofrekvenčnou tryskovou ventiláciou (HFJV) počas 4 h po vytvoren modelu MAS, jednu skupinu zvierat tvorili zdrav neventilované kontroly. Po usmrten zvierat sme určili celkov a diferenciálny počet buniek v bronchoalveolárnej lavážnej tekutine (BAL) a ich viabilitu. Stanovili sme stupeň pľúcneho edému z pomeru vlhkej a suchej hmotnosti pľúc (wet/dry ratio) a koncentraciu proteínov v BAL. V tkanive pľúc sme imunohistochemicky určili apoptotick index a aktivitu kaspázy-3 v alveolách a bronchoch. daje sme spracovali pomocou one-way ANOVA testu s post-hoc LSD testom.

Výsledky: Intratracheálne podanie mekónia spôsobilo vznamn zvyšenie koncentracie proteínov v BAL a wet/dry ratio. Zvyšil sa počet buniek (najmä neutrofilov) prenikajúcich do pľúc a tiež apoptóza epitelových buniek alveol a bronchov. Medzi nami použitými šetriacimi typmi ventilácie sme nepozorovali klinicky relevantn rozdiely v hodnotených parametroch.

Záver: Použitie všetkých nzkoobjemovch typov ventilácie (CMV, HFOV a HFJV) testovaných v štúdii viedlo k porovnateľným zmenám na pľúcnom tkanive experimentálnych zvierat s MAS.

Práca bola podporená projektami: BioMed Martin (ITMS 26220220187), APVV-15-0075, VEGA 1/0305/14.

MOŽNOSTI PROTEKTÍVNEHO OVPLYVNENIA ISCHEMICKO-REPERFÚZNEHO POŠKODENIA SRDCA KVERCETÍNOM

Barteková M.^{1,2}, Ferenczyová K.¹, Radošinská J.^{1,2}, Fogarassyová M.¹, Dovinová I.³, Tribulová N.¹, Barančík M.¹, Ravingerová T.¹

¹Ústav pre výskum srdca SAV, Bratislava, Slovenská republika; ²Fyziologický ústav, Lekárska fakulta Univerzity Komenského v Bratislave, Bratislava, Slovenská republika; ³Ústav normálnej a patologickej fyziológie SAV, Bratislava, Slovenská republika

Úvod: Kvercetín je prírodná polyfenolická látka, ktorá vykazuje viaceré pozitívne účinky na ľudské zdravie, vrátane účinkov na kardiovaskulárny systém, napríklad znižuje krvný tlak pri hypertenzii, vykazuje tiež antioxidačné a antitrombotické účinky.

Cieľ: Cieľom práce bolo zistiť účinky kvercetínu na odolnosť srdca voči I/R poškodeniu, preskúmanie modulácie týchto účinkov vplyvom veku a dĺžky podávania, ako aj súčasnej liečby doxorubicínom, a tiež odhaliť participujúce molekulárne mechanizmy.

Metódy: Modelom I/R poškodenia bola globálna ischémia izolovaného srdca. Kvercetín sa aplikoval buď akútne - priamo do perfúzneho roztoku (15µmol/L), alebo bol podávaný potkanom rôzneho veku chronicky - perorálne počas 4 resp. 6 týždňov v dávke 20mg/kg/deň. U časti potkanov bol súčasne s kvercetínom aplikovaný aj doxorubicín v kumulatívnej dávke 15mg/kg i.p. Molekulárne mechanizmy sa sledovali pomocou techník Western blotu, a tiež s využitím komerčných kitov pre sledovanie enzýmových aktivít.

Výsledky: Kvercetín zvyšoval odolnosť srdca voči I/R poškodeniu v akútnom ako aj chronickom podaní, pri in vivo aplikácii však závisel od veku potkanov, ako aj od dĺžky podávania pri zachovaní rovnakej dávky. Kvercetín bol účinný aj u potkanov vystavených súčasnému podávaniu doxorubicínu. Protektívny účinok kvercetínu voči I/R sa prejavil najmä v zlepšenej obnove funkčných parametrov srdca po ischémii. Súčasne so zlepšením obnovy funkcie srdca došlo k aktivácii Akt/GSK3-β/β-katenínovej signalizačnej dráhy, k zvýšenej expresii konexínu-43 a zvýšeniu celkovej aktivity SOD v tkanive srdca.

Záver: Na základe našich výsledkov konštatujeme, že kvercetín vykazuje protektívne účinky voči I/R poškodeniu srdca u zdravých potkanov, ako aj u jedincov s doxorubicínovou komedikáciou. Jeho účinky závisia od veku liečených jedincov ako aj od dĺžky jeho podávania. Na protektívnych účinkoch kvercetínu voči I/R poškodeniu sa pravdepodobne podieľa aktivácia dráhyAkt/GSK3-β/β-katenín, zvýšená expresia Cx-43, ako aj zvýšená aktivita SOD.

Práca bola podporená grantami No. VEGA SR 2/0061/16, 2/0108/15 a APVV-0348-12.

DEFECTS IN QUEUOSINE MODIFICATION OF TRNA: A TRIGGERING FACTOR LEADING TO THE DEVELOPMENT OF PARKINSONIAN DISORDERS?

Bednářová A.^{1,2}, Durham I.³, England A.¹, Chaudhuri A.⁴, Krishnan N.¹

¹*Department of Biochemistry, Molecular Biology, Entomology and Plant Pathology, Mississippi State University, USA;* ²*Institute of Entomology, Biology Centre, Academy of Sciences, České Budějovice, Czech Republic;* ³*Department of Wildlife, Fisheries and Aquaculture, Mississippi State University, USA;* ⁴*Department of Natural Sciences, Stinson Mathematics and Science Building, Stillman College, Tuscaloosa, USA*

Parkinson's disease (PD) is a progressive neurodegenerative disease characterized by movement disorder. Environmental as well as genetic factors play important roles in PD etiology. Several environmental toxins cause parkinsonism in human and animal models. On the other hand, genetic studies of rare early onset familial PD cases resulted in identification of disease-linked mutations in multiple genes. Recently, a number of studies have pointed to a link between defects in transfer RNA (tRNA) modifications and human diseases including neurological disorders. tRNAs are key molecules participating in protein synthesis. To augment their functionality they undergo extensive post-transcriptional modifications and, as such, are subject to regulation at multiple levels including transcription, transcript processing, localization and ribonucleoside base modification. Post-transcriptional enzyme-catalyzed modification of tRNA occurs at a number of base and sugar positions and influences specific anticodon - codon interactions and regulates translation, its efficiency and fidelity. This phenomenon of nucleoside modification is the most remarkable and results in a rich structural diversity of tRNA of which over 100 modified nucleosides have been characterized. Most often, hypermodified nucleosides are found in the wobble position of tRNAs, which play a direct role in maintaining translational efficiency and fidelity, codon recognition etc. One such hypermodified base is Queuosine (Q), a complex modification of guanosine found at position 34 (wobble position) of the GUN anticodons of four tRNA species (tRNA)^{Tyr, Asn, Asp, His}. Q has been shown to play an important role in tyrosine biosynthesis in mammals. It has also been shown that Q deficiency in eukaryotes compromises tyrosine production by increased tetrahydrobiopterin (BH4) oxidation to dihydrobiopterin (BH2). Both tyrosine and BH4 are essential in the biosynthesis pathway for dopamine (DA), a key neurotransmitter in higher animals. Here, we put forward the hypothesis that defects in enzymes and proteins critical for Q-tRNA formation could lead to DA deficiency and may likely play an important role in complex neurological human pathologies and contribute to development of Parkinsonian disorders. We detail the molecular mechanisms behind this connection and explore novel therapeutic interventions targeting Q-tRNA modifications.

NITRIC OXIDE ELEVATION IN POLYTRAUMA IS DRIVEN BY OXYGEN RADICALS

Beitl E.¹, Baňasová A.^{2,3}, Miková D.², Hampl V.²

¹1st Orthopaedic Clinic 1st Faculty of Medicine; ²Department of Physiology 2nd Faculty of Medicine; ³Department of Anaesthesiology and ICM 2nd Faculty of Medicine, Prague, Czech Republic

Introduction: A common problem in management of polytrauma - a simultaneous injury to more than one organ or organ system, at least one of them lethal without intervention - is a discrepancy between a relatively good initial state and a serious subsequent development. Since nitric oxide (NO) is produced in high quantities during tissue injury, we assumed that serum levels of NO (and its oxidation products, NOx) might serve as a prognostic marker of polytrauma severity. However, we found recently that NOx was increased in polytrauma, but not in the most severe cases. The present study was undertaken to test the hypothesis that serum NOx is reduced in severe polytrauma by concomitant overproduction of reactive oxygen species (ROS).

Methods: Polytrauma was induced in rats under anesthesia by bilateral fracture of femurs and tibiae plus incision of the right liver lobe through laparotomy. Serum NOx was measured by chemiluminescence after hot acidic reduction. The role of ROS was assessed by treatment with an antioxidant, N-acetyl-L-cysteine (NAC).

Results: Experimental polytrauma elevated NOx from 11.0 ± 0.7 to 23.8 ± 4.5 ppb. This was completely prevented by NAC treatment (9.1 ± 2.2 ppb).

Conclusions: Serum NOx is elevated in severe polytrauma, and this is not reduced by ROS. On the contrary, ROS are necessary for the NOx elevation, probably because ROS produced by inflammatory cells activated by the polytrauma induce massive NO production.

Supported by Grant Agency of the Czech Republic grant number GA13-01710S.

VZŤAH EOZINOFILOVÉHO KATIÓNOVÉHO PROTEÍNU, EOZINOFILOV A CELKOVÉHO IGE U PACIENTOV S ALERGICKOU RINITÍDOU

Benetinová V.¹, Lukán N.², Štofilová J.¹, Hijová E.¹, Bomba A.¹

¹Ústav experimentálnej medicíny, Lekárska fakulta UPJŠ, Košice, ²IV. Interná klinika UNLP, Košice, Slovenská republika

Úvod: Eozinofilový katiónový proteín (ECP) je polypeptid obsahujúci 133 aminokyselín, lokalizovaný v matrici eozinofilných granulocytov kde tvorí 30 % celkových proteínov. Eozinofilné granulocyty sú považované za dôležitú efektorovú zložku alergického zápalu. ECP je vysoko toxický proteín, ktorý sa uvoľňuje počas aktivácie eozinofilov. Sekrécia ECP môžu vyvolať protilátky IgG a IgA (reakcia závislá od protilátok), komponenty komplementu alebo cytokíny vyvolávajúce reakciu nezávislú od protilátok. Sérové hladiny ECP sú vyššie u pacientov, ktorí trpia chronickými zápalovými ochoreniami respiračného systému, pri akútnych bakteriálnych a vírusových infekciách, v prítomnosti nosových polypov a u pacientov trpiacich chronickou rinosinuitídou. Jeho stanovenie slúži taktiež na sledovanie aktivity zápalu pri astme, ako aj marker pre monitoring účinnosti liečby kortikosteroidmi.

Metodika: Do štúdie bolo zaradených 65 dospelých pacientov imunoalergologickej ambulancie IV. Internej kliniky UNLP v Košiciach. Na základe diagnózy boli rozdelení do skupiny s alergickou rinitídou (AR) a nealergickou rinitídou (NAR). V AR skupine (n = 43) bol priemerný vek 40 (21 – 58) rokov a pomer medzi ženami a mužmi bol 0,49:0,53. V skupine NAR (n = 22) bol priemerný vek 42 (23 – 73) a pomer medzi ženami a mužmi 0,59:0,41. U oboch skupín boli zhodnotené hladiny ECP, celkového IgE a absolútny/relatívny počet eozinofilov.

Výsledky: Priemerné hodnoty ECP (AR: 24,55 µg/l (4,71 – 75,1), NAR: 18,32 µg/l (3,82 – 33,34), hodnota absolútneho počtu eozinofilov (AR: 0,23 x 10⁹/l (0,03 – 1,18), NAR: 0,14 x 10⁹/l (0,03 – 0,57), relatívneho počtu eozinofilov (AR: 4,17 % (0,9 – 18,3), NAR: 2,38 % (0,4 – 10,6) a celkové IgE (AR: 606,93 µg/l (17,58 – 2868), NAR: 95,13 µg/l (3,6 – 669,4) boli u pacientov s alergickou rinitídou vyššie ako hodnoty u pacientov s nealergickou rinitídou.

Záver: Predbežné výsledky poukazujú na to, že ECP by mohol byť dôležitým mediátorom v patogenéze alergickej rinitídy. Jeho sledovanie môže byť využité v klinickej praxi ako jeden z významných markerov alergického zápalu.

Práca bola podporená grantom VEGA 1/0896/15 a grantom LF UPJŠ 7/GSD/2016.

ANALYSIS OF INFLAMMATORY RESPONSE IN SPINAL CORD AFTER INJURY AND ATORVASTATIN DELIVERY

Bimbová K., Bačová M., Stropkovská A., Fedorová J., Klimovičová M., Lukáčová N.

Institute of Neurobiology, Slovak Academy of Sciences, Košice, Slovak Republic

Introduction: Traumatic spinal cord injury belongs to the most serious neurological diseases. In recent decades, enormous progress has been made in understanding cellular and molecular mechanisms which are due to the spinal cord injury (SCI). These mechanisms, which are comprehensively called as secondary damage, also include inflammation. The inflammatory response is a combination of several events that begin in a relatively short period after injury. The aim of our study was to reduce the inflammatory response in spinal cord after compression injury and decrease the secondary damage after Atorvastatin application.

Methods: Adult Wistar rats were used in our experiments (n=16). Traumatic injury was induced under general anesthesia using compression device at Th9 segment with the weight of 40g/15 minutes. The animals were divided into 4 experimental groups: 1 – 2) animals with spinal cord injury surviving 4 and 24 hours; 3-4) animals with spinal cord injury + Atorvastatin (5 mg/kg, i.p.) surviving 4 and 24 hours. Before tissue harvesting blood was taken from all animals to determine the level of IL-1 β . After 4 and 24 hours rats were deeply anesthetized and transcardially perfused with 4% paraformaldehyde. Spinal cord sections were taken up to 1cm cranially and caudally from the lesion site and from epicenter of injury. Spinal sections were used for immunohistochemical staining of inflammatory cells to determine the extent of the inflammatory reaction before and after Atorvastatin delivery. Three primary antibodies were used to determine the inflammatory response: ED-1 (macrophages), GFAP (astrocytes) and IBA-1 (microglia).

Results: Strong inflammatory response was noted early after Th9 compression. The level of pro-inflammatory cytokines was significantly elevated 4 hours after SCI. Atorvastatin reduced pro-inflammatory cytokines almost to control level. The activation of resident cells and infiltration of immune cells into spinal cord was noted 1 day after spinal trauma. In Atorvastatin treated animals the infiltration of macrophages was significantly decreased 24 hours after injury. In addition, we observed reduced activation of resident cells at the same time period.

Conclusion: Atorvastatin in dose (5 mg/kg, i. p.) may effectively decrease inflammatory response and improve the process of tissue regeneration and axons outgrowing at the site of injury for long-term survival.

Supported by APVV grant No. 15/0766.

MONITORING GLUTAMÁTOM VYVOLANEJ EXCITOTOXICITY NERVOVÉHO TKANIVA V PROCESE DIASCHÍZY

Bona M.¹, Ihnátová L.¹, Hvizdošová N.¹, Jachová J.², Kluchová D.¹

¹Ústav anatómie, Lekárska fakulta, Univerzita P. J. Šafárika; ²Neurobiologický ústav SAV, Košice, Slovenská republika

Úvod: Diaschíza je jav definovaný ako mozgová dysfunkcia v oblasti mozgu distálne od miesta ischemického poškodenia, ktoré je anatomicky prepojené s poškodenou oblasťou. Vzhľadom na komplexnosť mechanizmov a bunkových dráh súvisiacich s ischemickým poškodením a vysokú senzitivitu nervového tkaniva je tento nedostatočne preštudovaný fenomén kritickým parametrom ovplyvňujúcim celkový dopad mozgovej príhody na organizmus.

Metodika: Prejavy diaschízy sme sledovali v kontralaterálnej hemisfére na modeli oklúzie strednej mozgovej tepny u potkana s následnou 2-hodinovou až 3-dňovou reperfúziou. Hladinu glutamátu sme detekovali fluorimetricky v oblasti zodpovedajúcej jadru a penumbre kontralaterálneho tkaniva. Vo vybranom časovom úseku sme vyhodnotili integritu hematoencefalickej bariéry (extravazácia Evansovej modrej) a počet degenerujúcich neurónov (FluoroJade B)

Výsledky: Aj napriek miernej fluktuácii glutamátu v skorom štádiu postischemickej reperfúzie (2 hodiny), významnú zmenu hladiny glutamátu v tkanive kontralaterálnej hemisféry sme zaznamenali až v prvý deň recirkulácie (oblasť zodpovedajúca jadru- nárast o 31%), teda v čase najvyššieho objemu ischemickej lézie (260 ± 11.18 mm³). V tomto časovom intervale sme zaznamenali aj mierny, avšak nie významný, nárast počtu degenerujúcich neurónov a oslabenie integrity hematoencefalickej bariéry (BBB). V nasledujúcich dvoch dňoch bola hladina glutamátu v kontralaterálnom tkanive zvýšená nevýznamne, s tendenciou poklesu na kontrolnú úroveň (jadro- 0.277 ± 0.032 μ mol/mg; penumbra- 0.252 ± 0.032 μ mol/mg proteínov).

Záver: Diaschíza vyvolaná dočasnou ischemiou sa v prvých dňoch prejaví prechodným zvýšením excitotoxicity, ktorý by mohol súvisieť aj s narušením integrity BBB a degeneráciou neurónov. Toto pozorovanie potvrdzuje dôležitosť štúdia diaschízy spôsobenej rôznymi typmi ischemických stavov pre monitorovanie ich finálneho dopadu na postihnutého.

Práca bola podporená grantom No. VEGA 2/0012/15.

ÚLOHA SYNTÉZY PROTEÍNOV V BUDOVANÍ VČASNEJ TOLERANCIE MOZGU VOČI ISCHEMICKÝM PODMIENKAM

Bonová P.¹, Némethová M.¹, Matiašová M.¹, Jachová J., Bona M.², Gottlieb M.¹

¹Neurobiologický ústav SAV; ²Ústav anatómie, Lekárska fakulta, Univerzita P. J. Šafárika, Košice, Slovenská republika

Úvod: Jednou z atraktívnych stratégií liečby a prevencie ischemického a ischemicko reperfúzneho poškodenia mozgu je stimulácia endogénnych mechanizmov vedúcich k protektívnemu fenotypu postihnutej bunky, k ischemickej tolerancii (IT). Pre maximalizáciu pozitívneho efektu IT je vo väčšine klinických prípadov nutné jej navodenie v čo najkratšom časovom intervale, tzv. včasné kondicionovanie. Aktivácia IT je podmienená produkciou v krvi obsiahnutého faktora, ktorého chemická podstata a identita ostáva doposiaľ neobjasnená.

Metodika: V našom experimente sme na modeli fokálnej ischémie mozgu študovali úlohu syntézy proteínov v procese tvorby tohto faktora. Na zhodnotenie zahrnutia dvoch najdôležitejších procesov syntézy proteínov, transkripcie a translácie, boli potkanom pred navodením IT podávané ich špecifické inhibítory.

Výsledky: Hoci IT zabezpečila redukciu objemu ischémiou poškodeného tkaniva o 65%, zablokovanie procesu transkripcie a translácie pred jej navodením sa tolerantným fenotypom neprejavilo. Rozsah poškodenia bol v oboch prípadoch signifikantne väčší ($264.7 \pm 25.78 \text{ mm}^3$, resp. $3330.4 \pm 71.8 \text{ mm}^3$) a len mierne sa odlišoval od skupiny zvierat podrobených ischémiou bez kondicionovania ($260 \pm 11.18 \text{ mm}^3$).

Záver: Výsledky ukázali, že napriek zaužívanej dogme, ktorá opisuje vplyv včasného kondicionovania len ako modifikáciu existujúcich proteínov, je táto podmienená aj génovou expresiou. Neobjasnenou však ostáva otázka, či vyvolá „overexpresiu“ už existujúcej bielkoviny alebo aktiváciu a produkciu nového bioaktívneho proteínu.

Práca bola podporená grantom No. VEGA 2/0012/15 a VEGA 2/0045/15.

TESTOSTERÓN A STARNUTIE – BEHAVIORÁLNA CHARAKTERISTIKA WISTAR POTKANOV

Borbélyová V.¹, Domonkos E.¹, Bábíčková J.¹, Tóthová Ľ.¹, Bosý M.², Hodosy J.^{1,3}, Celec P.^{1,4,5}

¹Ústav molekulárnej biomedicíny, Lekárska fakulta, Bratislava, Slovenská republika; ²Katedra živočíšnej fyziológie a etológie, Prírodovedecká fakulta, Bratislava, Slovenská republika; ³Fyziologický ústav, Lekárska fakulta, Bratislava, Slovenská republika; ⁴Ústav patologickej fyziológie, Lekárska fakulta, Bratislava, Slovenská republika; ⁵Katedra molekulárnej biológie, Prírodovedecká fakulta, Bratislava, Slovenská republika

Úvod: Starnutie u mužov je sprevádzané andropauzou. Hypogonadizmus u mužov je asociovaný so zmenami správania, s depresiou ale aj s zhoršenými kognitívnymi schopnosťami. Cieľom tohto experimentu bolo popísať pohlavné rozdiely v správaní a analyzovať účinok dlhodobého nedostatku androgénov u potkanov v starobe.

Metodika: Experiment sme uskutočnili na troch skupinách zvierat: kontrolné samce, kontrolné samice a kastrované samce (kastrácia na 47. postnatálny deň). V rámci behaviorálnej fenotypizácie boli potkany sledované v tridsiatom mesiaci života z hľadiska pohybovej aktivity, úzkostného správania, pamäti, anhedónie, sociálneho a depresívneho správania. Na základe výsledkov fenotypizácie sme testovali vplyv akútneho podávania testosterónu na depresívne správanie samíc a kastrovaných samcov.

Výsledky: Kastrácia nemala u samcov vplyv na žiadnu nami sledovanú formu správania. Pohlavné rozdiely sme pozorovali iba pri sledovaní depresívneho správania, kde samce v porovnaní so samicami prejavili vyššiu mieru depresívneho správania. V intervenčnej štúdií nemalo akútne podávanie testosterónu žiadny vplyv na depresívne správanie kastrovaných samcov a samíc.

Záver: Komplexná behaviorálna fenotypizácia starých potkanov neodhalila žiadny vplyv endogénneho testosterónu. Na základe našich výsledkov môžeme konštatovať, že ani dlhodobý hypogonadizmus a ani akútne podávanie testosterónu nevyvoláva zmenu správania samcov potkanov v starobe.

Práca bola podporená grantom no. UK/308/2016.

MOŽNÝ ÚČINOK VOLUNTÁRNYCH SNIFFOV NA ROZVOJ REFLEXNEJ SYNKOPY

Brandeburová A.¹, Bavoľárová M.², Tomori Z.¹

¹Ústav lekárskej fyziológie LF UPJŠ, Košice, Slovenská republika ²IV. Interná klinika UN L. Pasteura, Košice, Slovenská republika

Úvod: Tri respiračné reflexy (kašľový, expiračný a aspiračný reflex) silno aktivujú dva generátory mozgového kmeňa a môžu priamo modifikovať centrálné kontrolné mechanizmy rôznych vitálnych funkcií. To by mohlo pomôcť normalizovať hypo- a hyperfunkčné poruchy, pokiaľ tomu nebráni prítomnosť ťažkých alebo fixovaných zmien v experimentoch na zvieratách a pravdepodobne tiež v rámci ľudských štúdií. Aspiračný reflex je mohutný obranný reflex dýchacích ciest, ktorý je vyvolaný rozličnými mechanickými a elektrickými podnetmi pôsobiacimi na senzorické receptory nasopharyngu a nazálneho filtra analyzovaný detailne u zvierat. Manifestuje sa ako ojedinelé spazmodické inspírium. Na základe porovnaní so známymi respiračnými vzormi boli pre tento reflex navrhnuté tiež alternatívne názvy, ako napr. sniff-like reflex - čuchaniu podobný reflex alebo gasp-like reflex - lapavému dychu podobný reflex. Aspiračný reflex má silný sympatomimetický efekt.

Metodika: Vyšetřili sme dve pacientky (62- a 56-ročnú) s anamnézou vazovagálnej synkopy, liečené midodrinom, použitím head-up tilt testu. Pacientky boli tiltované pod uhlom 60 stupňov podľa štandardného Westminsterského protokolu. V okamihu začínajúceho poklesu tlaku krvi boli požiadané realizovať vôľové sniffy - voluntárne ekvivalenty aspiračného reflexu (ide o rýchle a úsilné inspirácie zvyčajne bez nasledujúcej aktívnej expirácie). Pacientky boli monitorované Spirosonom – prístrojom kontinuálne zaznamenávajúcim zmeny v prietoku vzduchu cez dýchacie cesty, dychových objemov a EKG.

Výsledky: V oboch prípadoch vôľové sniffy zastavili ďalší pokles tlaku krvi, stabilizovali cirkuláciu a zabránili rozvoju poruchy vedomia.

Záver: Tieto dva prípady potvrdili sympatomimetický efekt vôľových ekvivalentov aspiračného reflexu. Reproducibilita tilt-table testu bola skúmaná vo viacerých menších súboroch. Ukázalo sa, že celková reproducibilita varíruje medzi 85-94%. 50% všetkých pacientov s pôvodne pozitívnym testom vykázalo následne negatívne výsledky, ak boli liečení medikamentózne alebo placebo.

NUCLEAR RETINOID (RAR) AND RETINOID X (RXR) RECEPTORS AND THEIR ROLE IN PHYSIOLOGICAL PROCESSES AND THERAPY OF SELECTED ONCOLOGICAL DISEASES

Brtko J.¹, Toporová L.¹, Bialešová L.¹, Galbavý Š.², Podoba J.², Macejová D.¹

¹*Institute of Experimental Endocrinology, BMC, SAV*, ²*Saint Elizabeth Institute of Oncology, Bratislava, Slovak Republic*

Introduction: All-trans retinoic acid (retinoid) represents a cognate ligand of natural origin for nuclear retinoid receptors (RARalpha, RARbeta, and RARgamma). Its structural isomer, 9-cis retinoic acid (rexinoid) plays a role as a natural cognate ligand for nuclear retinoid X receptors (RXRalpha, RXRbeta, and RXRgamma). Both retinoids, rexinoids and their biologically active derivatives are involved in a complex arrangement of physiological and developmental responses in many tissues acting as ligand-inducible transcription factors. RXRs are common heterodimerization partners for several nuclear receptors comprising retinoid receptors, thyroid hormone receptors, dihydroxyvitamin D3 receptor and other five types of nuclear receptors. Thus, the "nuclear receptor partner"/retinoid X heterodimers are considered to be ligand-activated, DNA-binding, trans-acting, transcription-modulating proteins involved in a general molecular mechanism responsible for transcriptional responses in target genes. Natural and synthetic retinoids have therapeutical effects due to their antiproliferative and apoptosis-inducing effects. They are known to cause redifferentiation or to prevent further dedifferentiation of various neoplastic tissues.

Aims: We introduce nuclear retinoid and retinoid X receptors upon binding of their cognate ligands as crucial transcriptional regulators involved in many physiological processes. Methods. A number of cell biology, histopathology and molecular biology approaches have been exploited in the study.

Results: We have evaluated retinoid/rexinoid nuclear receptor subtypes (RARalpha, RARbeta, RARgamma, RXRalpha, RXRbeta, RXRgamma) expression patterns by the RT-PCR technique in human thyroid papillary cancer and breast cancer verified by cytology and histopathology techniques and compared them with that of intact thyroid and breast tissue.

Conclusion: This type of diagnostic approaches based on studies on nuclear receptors expression profiles, enlisted into the diagnostic algorithm of patients before their possible treatment by specific nuclear receptor ligands, might thus enhance therapeutical potentialities and bring positive results in the treatment of a variety of neoplasias.

This work was supported by the APVV-15-0372, APVV-14-0334 and APVV-0160-11 grants.

CÉVNÍ SYSTÉM A JEHO OVLIVNĚNÍ ONKOLOGICKOU LÉČBOU V DĚTSKÉM VĚKU

Budinskaya K.¹, Puchnerová V.¹, Svačinová J.¹, Hrstková H.², Pekařová A.¹, Pekař M.¹, Nováková Z.¹.

¹Fyziologický ústav Lékařské fakulty Masarykovy univerzity, Brno, Česká republika;

²Klinika dětské onkologie Lékařské fakulty Masarykovy univerzity a Fakultní nemocnice Brno, Brno, Česká republika

Úvod: Antracykliny patří mezi významná protinádorová antibiotika s širokým spektrem využití. Toto je limitováno jejich kardiotoxicitou. V literatuře je popisováno i zvýšení tuhosti tepenné stěny a parametrů ji určujících, které hrají klíčovou úlohu v patogenezi kardiovaskulárních chorob. Cílem naší studie bylo zjistit, zda antracyklinová léčba v dětství ovlivňuje základní parametry hodnotící vlastnosti cévní stěny.

Metodika: Vyšetřili jsme 98 bývalých onkologických pacientů po antracyklinové léčbě v dětství (věk: 13 ± 30 let, doba od ukončení léčby ke dni vyšetření 4 ± 25 roků, kumulativní dávka antracyklinů $220,5 \pm 60,8$ mg/m², nejčastější diagnóza akutní lymfoblastická leukémie) a 260 zdravých kontrol odpovídajícího věku. Změna tuhosti cévní stěny byla odvozena na základě parametrů tvaru pulzové vlny (augmentační tlak: AP, augmentační index standardizovaný na tepovou frekvenci 75/min: AIx75) vyšetřené metodou aplanační tonometrie (Sfymocor, AtCor Medical, Austrálie). Testován byl rozdíl mezi pacienty a zdravými kontrolami v rámci věkových skupin 13 – 15, 16 – 18, 19 – 24 a 25 – 30 let (Mann-Whitneyho test).

Výsledky: Pacienti měly oproti kontrolám významně vyšší AP i AIx75 ve všech věkových skupinách kromě skupiny 25 – 30 let.

Závěr: Studie ukazuje, že osoby, které byli v dětství léčeni antracykliny pro nádorové onemocnění, mají zvýšený augmentační index a augmentační tlak v porovnání se stejně starými zdravými jedinci. Pouze ve věkové skupině 25 – 30 let se pacienti nelišili od kontrol. Lze tedy předpokládat, že ačkoliv antracyklinová léčba mohla narušit vlastnosti arteriální stěny v prvních letech po ukončení terapie, s postupujícím věkem dochází ke srovnání parametrů tuhosti cévní stěny se zdravými kontrolami.

Tato studie vznikla na Masarykově univerzitě v rámci projektu "Kardiovaskulární systém očima molekulární fyziologie" číslo MUNI/A/1355/2016 podpořeného z prostředků účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum, kterou poskytlo MŠMT v roce 2017.

EFFECTS OF SUPPLEMENTAL HUMATE SUBSTANCES ON RUMINAL FERMENTATION IN SHEEP

Bujňák L., Mihok T., Marcin A., Hreško Šamudovská A., Nad' P., Bindas E.

Institute of nutrition, dietetics and feed production; University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Slovak Republic

Introduction: Humate substances, or humic acids, are geological deposits in the earth's crust composed mainly of decaying plant matter through the biological activities of microorganisms. Humates have nitrogen-binding qualities that could prove to be beneficial in the retention of ammonia nitrogen in the rumen. The N-binding ability could improve the retention time and slow down releasing of ammonia nitrogen in the rumen.

Material and methods: Twelve crossbred merino sheep were used in four day experiment. The animals were housed in two groups – control and test. Sheep were fed with the daily basal diet consisting of 1.25 kg grass hay and 0.25 kg of cereal grains mixture divided into two equal parts. The sheep received extra, individually (g.day⁻¹ per animal) of 10 g of urea in the control group and 40 g of humate product plus 10 g urea in the test group. The rumen contents were taken from rumen using a tube at 3, 6 and 9 hrs after morning feeding on day 0, 2, 3. The level of rumen fermentation was evaluated by analyzing rumen pH, ammonia content (NH₃) (mgNH₃/100ml) and the sum of volatile fatty acids (Σ VFA) (mmol/L). An unpaired t-test was used for statistical evaluation of results.

Results: The supplementation of humic substances with urea combination showed the following in hourly dynamics in the test group: higher level of ammonia content at the 3 h and 6 h (P<0.05) intervals after feeding in comparison with the control group; the slower decrease of ammonia in the rumen in between the third and the sixth hour after feeding. Significant differences were not detected in either groups in the pH and Σ VFA measurements in all hourly collections during day 2 and 3 as well as in the ammonia parameter 9 h after feeding (P>0.05).

Conclusion: The addition of humate substances has confirmed nitrogen-binding capacity in the rumen with longer retention time for potential releasing of ammonia. It had no significant effect on the pH and VFA content in the rumen.

The study was supported by the project VEGA No. 1/0663/15.

ODLIŠNOSTI SYMPATIKOVEJ AKTIVITY U DETÍ S AUTIZMOM

Bujňáková I.^{1,2}, Ondrejka I.³, Mešťaník M.^{1,2}, Hrtánek I.³, Flešková D.³, Višňovcová Z.², Tonhajzerová I.^{1,2}

¹Ústav fyziológie JLF UK, Martin, ²Martinské centrum pre biomedicínu JLF UK, Martin, ³Psychiatrická klinika JLF UK a UNM, Martin, Slovenská republika

Úvod: U detí s poruchou autistického spektra (PAS) sa okrem jadrových symptómov vyskytujú často aj iné pridružené ochorenia, ako je úzkosť, depresia či hyperkinetická porucha (ADHD). Cieľom práce bolo štúdium zmien sympatikového arousal v skupinách autistických detí bez liečby a s farmakoterapiou počas ortoklinostatického manévru použitím analýzy elektrodermálnej aktivity (EDA), ako indexu sympatikovej cholínernej aktivity.

Metodika: Celkovo bolo vyšetrených 23 detí s PAS vo veku 7-15 rokov a 14 zdravých detí. Deti s PAS boli rozdelené do 2 skupín: s liečbou (n=11) a bez liečby (n=12). Elektrodermálna aktivita bola monitorovaná počas ortoklinostatického manévru, kde každý interval (ľah-stoj-ľah) trval 5 min. Hodnoteným parametrom bola amplitúda EDA (μ S) použitím prístroja FlexComp Infinity.

Výsledky: Skupina detí s PAS mala signifikantne nižšiu EDA vo všetkých troch fázach ortoklinostatického manévru v porovnaní s kontrolou ($p=0,011$; $p=0,014$; $p=0,028$). V podskupine PAS bez liečby bola EDA signifikantne nižšia vo všetkých troch fázach ortoklinostatického manévru oproti kontrole ($p=0,005$; $p=0,002$; $p=0,003$) a v porovnaní s podskupinou liečených detí s PAS bola nižšia v ortostáze ($p=0,027$) a následnej klinostáze ($p=0,049$). Hodnoty EDA v podskupine PAS s liečbou nevykazovali signifikantné rozdiely oproti kontrolnej skupine.

Záver: Výsledky poukázali na sympatikový underarousal v celej skupine detí s PAS oproti kontrole, čo môže byť prejavom jemných abnormalít regulácie sympatikového nervového systému. Analýza jednotlivých podskupín poukázala na sympatikový underarousal v skupine PAS bez liečby, kým skupina PAS s liečbou vykazovala porovnateľnú sympatikovú aktivitu oproti kontrole. Sympatiková aktivita v odpovedi na stres bola nižšia v skupine PAS bez liečby v porovnaní s liečbou, čo poukazuje na odlišnosť sympatikovej aktivácie v závislosti od liečby. Dané zistenie môže významne pomôcť pri diagnostikovaní a monitorovaní priebehu liečby u detí s PAS.

Práca bola podporená grantom VEGA No. 1/0087/14 a projektom „Martinské centrum pre biomedicínu (BioMed Martin)” ITMS 26220220187, spolufinancovaný zo zdrojov EÚ.

DLOUHODOBÉ SLEDOVÁNÍ HLADIN GHRELINU U RESTRIKČNÍCH ZÁKROKŮ NA ŽALUDKU NA ZMĚNY HMOTNOSTI A KONTROLU GLYKÉMIE U SUPER OBÉZNÍCH PACIENTŮ

Bužga M.¹, Švagera Z.², Holéczy P.³

Ústav fyziologie a patofyziologie LF OU; ²Katedra interních oborů LF OU; ³Chirurgické oddělení, Vítkovická nemocnice, Ostrava, Česká republika

Úvod: Obezita patří k vysoce aktuálním problémům současné civilizace. Léčba obezity je dlouhodobá, navíc s mnohdy nejistými výsledky. Řešením jsou bariatrické operace, při kterých je možné dosáhnout dlouhodobých metabolických změn. Jedním z dlouhodobě diskutovaných hormonů a jeho vlivu na úspěšnost léčby je orexigenní hormon ghrelin.

Metodika: Do studie bylo zařazeno 127 morbidně obézních pacientů (BMI > 40 kg/m²). Pro hodnocení byly vybrány dva restriktivní bariatrické výkony a to standardizovanou sleeve gatrektomy - LSG (84 osob) a novou, experimentální plikaci žaludku - LGCP (43 osob). Somaticky i z hlediska metabolických parametrů byly obě skupiny zcela srovnatelné. Pacienti byli sledováni 18 měsíců od operace každé 3 měsíce.

Výsledky: U všech pacientů došlo po 18 měsících od operace k výraznému úbytku hmotnosti a to 33,7 kg u LSG respektive 25,9 kg u LGCP. U obou skupin došlo k významnému poklesu hladin glykémie (LSG - 6,2 mmol/l před operací a 5,2 mmol/l po 18 měsících; LGCP 6,1 mmol/l před operací a 5,1 mmol/l 18 měsíců po operaci). Ghrelin po LSG dramaticky poklesl z 140,7 ng/l předoperačně na 69,4 ng/l 3. měsíc. Při dalších kontrolách začaly hladiny ghreluinu stoupat až na 107,8 ng/l 18. měsíc po operaci. Po LGCP došlo 3. měsíc k statisticky významnému vzestupu ghreluinu z 130 ng/l předoperačně na 173 ng/l, po němž došlo k pomalému poklesu, nicméně jeho koncentrace zůstávala při všech odběrech vyšší než při vstupním vyšetření. Hladiny ghreluinu se mezi LSG a LGCP statisticky významně lišily při všech odběrech (p<0,01).

Závěr: Obě bariatrické metody mají nesporný dopad na metabolické a tělesné parametry. LSG je nejrozšířenější bariatrická metoda avšak s nevratnou resekci 80% žaludku na protě tomu je metoda LGCP plně reverzibilní. Z výsledků předkládané studie je zřejmé, že LGCP má dopad na váhové úbytky, glykemickou kontrolu a hormonální dráhy. Nicméně je tato metoda méně účinná v porovnání s LSG a to pravděpodobně díky zachování celého žaludku a jeho sekreční části, přesto by však mohla najít v budoucnu uplatnění u pacientů odmítajících ireverzibilní malabsorbční a metabolické zákroky jako je například LSG.

SIMULÁCIA CHRONICKEJ ENVIRONMENTÁLNEJ EXPOZÍCIE NÍZKYMI DÁVKAMI KADMIA NA VYBRANÉ FYZIOLOGICKÉ A TOXIKOLOGICKÉ PARAMETRE V EXPERIMENTE U POTKANOV KMEŇA WISTAR.

Cimboláková I., Nováková J., Lovásová E.

Ústav patologickej fyziológie, LF UPJŠ Košice, Slovenská republika

Práca bola zameraná na sledovanie vplyvu chronickej expozície nízkymi dávkami kadmia v experimente u potkanov kmeňa Wistar. Hlavným cieľom bolo vytypovanie vhodných markerov chronickej intoxikácie ťažkým kovom u potkanov.

Do pokusu bolo zaradených 32 potkanov (16 samičiek a 16 samcov) vo veku 4 týždňov, s priemernou hmotnosťou 120 ± 19 g. Zvieratá v experimente boli náhodne rozdelené do 2 skupín: kontrolná skupina (K, n=16, 8 samcov, 8 samíc) a skupina exponovaná kadmium (Cd, n=16, 8 samcov, 8 samíc). Kontrolné skupiny (K, K1) prijímali neoštetrenú, čistú pitnú vodu. Skupiny Cd a Cd1 prijímali vodu s obsahom chloridu kademnatého dvojvodého ($\text{CdCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$). Kadmium bolo aplikované potkanom v pokusných skupinách v pitnej vode v koncentrácii 500 násobku maximálnej prípustnej koncentracii ($\text{Cd} - 2,5 \text{ mg Cd.l}^{-1}$).

Výsledky sme hodnotili každý štvrtý rok počas celej doby trvania pokusu (1 rok). Sledovali sme vybrané fyziologické parametre (dĺžku života, zmenu hmotnosti, príjem potravy a príjem vody) a toxikologické parametre (ADD $\text{mg.kg}^{-1}.\text{d}^{-1}$, príjem vyjadrený ako % jednorázovej LD50 a celková prijatá dávka za 52 týždňov v $\text{mg.kg}^{-1} \text{ ž. hm.}$).

Pri štúdiu fyziologických parametrov sme zistili rozdiely tak medzi jednotlivými skupinami, ako aj medzi pohlaviami, čo potvrdzuje, že tieto ukazovatele sú pri pokusoch tohto typu dôležité a môžu poskytnúť dobré východisko pre ďalšie štúdiá chronickej expozície so subtoxickými dávkami ťažkých kovov.

Pri sledovaní toxikologických parametrov sme zistili, že priemerná denná dávka kadmia u samcov bola $0,28 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{d}^{-1}$, u samíc $0,29 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{d}^{-1}$. Uvedené denné dávky kadmia môžeme považovať za nízke pre chronické expozície.

Výsledky rozširujú súčasné poznatky a poskytli cenné informácie pre chronické štúdiá subtoxickými dávkami sledovaného ťažkého kovu.

VZŤAH METYLGLYOXALU A CENTRÁLNEJ OBEZITY U ADOLESCENTOV

Csongová M.¹, Koberová I.¹, Gurecká R.², Scheijen J.³, Van de Waarenburg M.³, Schalkwijk C.G.³, Šebeková K.¹

¹Ústav Molekulárnej Biomedicíny LFUK, Bratislava, Slovakia, ²Ústav Lekárskej Fyziky, Biofyziky, Informatiky a Telemedicíny LFUK, Bratislava, Slovakia, ³Ústav Internej Medicíny, Medické Centrum Univerzity Maastricht, Maastricht, Holandsko

Úvod: Reaktívny oxoaldehyd metylglyoxal (MGO) vzniká najmä v priebehu glykolýzy a peroxidácie lipidov. Je prekursorom koncových produktov pokročilej glykácie (advanced glycation end products - AGEs), napr. N ϵ -carboxyetyllyzínu (CEL) a MGO-derivovaných hydroimidazolónov (MG-Hs). Tvorba AGEs je akcelerovaná pri patologických stavoch spojených so zvýšeným oxidačným a karbonylovým stresom, ako napr. obezita. Predpokladá sa, že MGO a AGEs prispievajú k dysfunkcii tukového tkaniva a indukujú inzulinovú rezistenciu.

Metodika: Koncentrácie MGO, voľného a na bielkoviny viazaného CEL a MG-Hs v plazme a voľného CEL a MG-Hs v moči sme stanovili metódou UPLC-MSMS (tandem-mass ultra performance liquid chromatography) u 188 štíhlych a 149 centrálne obéznych adolescentov vo veku ± 17 rokov.

Výsledky: Centrálne obézni mladiství mali významne vyššie koncentrácie MGO ($p=0.0055$) a na bielkoviny viazaného CEL ($p=0.0001$) v plazme, avšak koncentrácie na bielkoviny viazaných hydroimidazolónov boli významne nižšie ($p<0.0001$) v porovnaní so štíhlymi adolescentmi.

Záver: Novým poznatkom našej práce je zistenie, že k hromadeniu MGO a jeho na bielkoviny viazaných aduktov dochádza v dôsledku zvýšeného karbonylového stresu u nediabetických obéznych adolescentov. Hromadenie MGO môže byť dôsledkom zníženej aktivity detoxifikačného enzýmu MGO - glyoxalázy-1. Objasniť túto otázku plánujeme stanovením jej aktivity v erytrocytoch alebo renálnej exkrécie D-laktátu (koncový metabolit degradácie MGO glyoxalázou). In vivo je MGO hlavným zdrojom CEL, čo sa u obéznych adolescentov prejavuje zvýšenou modifikáciou lyzínu plazmatických bielkovín. Paradoxné zníženie koncentrácií MGO aduktov arginínu – MG-Hs – môže vyplývať zo skutočnosti, že časť týchto aduktov má antioxidačné účinky, a podliehajú spontánnej deglykačnej reakcii s regeneráciou arginínu za vzniku pyruvátu. Na potvrdenie tohto predpokladu bude nutné stanovenie jednotlivých izomérov MG-Hs.

Práca bola podporená grantmi VEGA: 0447-12 (KS), APVV: 1/0637/13 (KS) a EASD ARTF: 94766 (MCs)

NEZRELÉ PĽÚCA A ENDOTOXÍN: EFEKT LIEČBY SURFAKTANTOM

Čalkovská A.^{1,2}, Haegerstrand-Björkman M.², Linderholm B.², Curstedt T.²

¹Ústav fyziológie a Martinské centrum pre biomedicínu, Jesseniova lekárska fakulta UK, Martin, Slovenská republika, ²Laboratórium pre výskum surfaktantu, Karolinska Institutet, Štokholm, Švédsko

Úvod: Prenatálny a postnatálny zápal zohráva jednu z kľúčových úloh v rozvoji chronických pľúcnych ochorení u predčasne narodených detí. V kritickom období postnatálnej adaptácie môže byť úloha surfaktantu narušená vplyvom lipopolysacharidu (LPS), ktorý je súčasťou membrán gram-negatívnych baktérií. V štúdiu sme testovali hypotézu, že odolnosť surfaktantu proti LPS možno zvýšiť, a zároveň priaznivo ovplyvniť rozvíjajúci sa zápal, obohatením surfaktantu o cyklické antibiotikum polymyxín B (PxB).

Metodika: V modeli zachytenej bubliny (CBS) sme hodnotili správanie sa modifikovaného prirodzeného surfaktantu (Curosurf®; Chiesi Farmaceutici, Parma, Taliansko) po expozícii endotoxínu (LPS E.coli) a PxB. V experimentálnom modeli boli zvieratá (králik novozélandský biely) porodené cisárskym rezom na 27.deň intrauterinného vývoja, mali urobenú tracheotómiu, bol im podaný fyziologický roztok (2 ml/kg) alebo rovnaký objem LPS v dávke 500 µg/kg hmotnosti tela a boli umelo ventilované 100 % kyslíkom. Zvieratá s LPS boli po 30 min liečené surfaktantom (200 mg/kg) bez alebo s 3% PxB (skupiny LPS/Surf a LPS/Surf/PxB), resp. liečbu nedostali (skupina LPS); skupina s fyziologickým roztokom dostala surfaktant v rovnakej dávke (NaCl/Surf). Všetky boli ventilované dychovými objemami 6-7 ml/kg počas ďalších 2 hodín. Vyhodnocovali sme pľúcnu poddajnosť, pľúcne objemy post mortem, histologický obraz a stupeň expanzie alveol.

Výsledky: Pridanie 3% LPS ku Curosurfu s koncentráciou fosfolipidov 3 mg/ml zvýšilo povrchové napätie (gmin) z $0,6 \pm 0,1$ mN/m na $15,2 \pm 0,9$ mN/m. Pridanie PxB k tejto zmesi už v koncentrácii 1% zabránilo inaktivácii surfaktantu a znížilo gmin na $0,8 \pm 0,2$ mN/m. Zvieratá s LPS mali nižšiu pľúcnu poddajnosť a pľúcne objemy oproti ostatným skupinám (všetky $p < 0,001$). Skupina LPS/Surf/PxB mala významne vyššie pľúcne objemy ako skupina NaCl/Surf a LPS/Surf (obidve $p < 0,05$). Pridanie PxB k surfaktantu zároveň zredukovalo množstvo zápalových buniek a zvýšilo vzdušnosť alveol.

Záver: LPS interferuje s povrchovo-aktívnymi vlastnosťami pľúcneho surfaktantu, pričom polymyxín B zvyšuje odolnosť surfaktantu voči tejto inaktivácii. Podanie surfaktantu pri respiračnom zlyhávaní z nezrelosti má pozitívnu odozvu aj pri súčasnej expozícii LPS.

Práca bola podporená grantom VEGA č. 1/0469/16, APVV-0075-15 a BioMed 26220220187.

METABOLICKÉ A BEHAVIORÁLNE DÔSLEDKY PRÍJMU KOLOVÉHO NÁPOJA POČAS GRAVIDITY

Čonka J., Borbélyová V., Trubačová S., Vokálová L., Celec P.

Lekárska fakulta Univerzity Komenského, Bratislava, Slovenská republika

Úvod: Príjem sladených nápojov, ktorých prototypom sú kolové nápoje, je asociovaný s obezitou, diabetom a metabolickým syndrómom. Podľa asociačných štúdií zvyšuje príjem sladených nápojov počas gravidity riziko gestačného diabetu a tým môže mať negatívne metabolické a behaviorálne dôsledky aj na potomstvo. Cieľom našej štúdie bolo overiť kauzalitu tejto asociácie a popísať prípadné synergické účinky príjmu koly a diabetogénnej potravy.

Materiály a metódy: Gravidné myši (CD-1, n=40) boli randomizované do troch skupín – CTRL, Kola a Kola + Diabetogénna potrava. Počas celej gravidity mali zvieratá ad libitum prístup k vode (CTRL) alebo kole, a k diabetogénnej alebo kontrolnej potrave. Pravidelne bol sledovaný prírastok na hmotnosti, konzumácia potravy a príjem tekutín. Na 19. gestačný deň bola časť gravidných samíc usmrtená, kým zvyšná časť samíc spontánne porodila. Okrem vplyvu na feto-placentárnu jednotku sme u matiek i potomstva analyzovali krvný tlak, inzulínovú senzitivitu a renálne funkcie. Navyše sme u potomstva sledovali správanie pomocou behaviorálnych testov.

Výsledky: Ad libitum prístup ku kole viedol u gravidných myší k vyššiemu energetickému príjmu o jednu tretinu v porovnaní s kontrolnou skupinou bez ohľadu na to, či mali zvieratá kontrolnú alebo diabetogénnu potravu. Napriek tomu sa skupiny medzi sebou nelíšili v prírastku hmotnosti ani v hmotnosti plodov a glykémia nalačno bola vyššia iba v skupine Kola + Diabetogénna potrava. V ostatných sledovaných veličinách sme rozdiel medzi skupinami nepozorovali.

Záver: Výsledky nášho animálneho experimentu nepotvrdili kauzálnu súvislosť medzi príjmom koly a gestačným diabetom. Epidemiologické štúdie môžu byť zaťažené chybou z asociácie medzi príjmom kolových nápojov a diabetogénnej stravy. Na druhej strane však krátka gravidita u myší limituje interpretáciu animálnych experimentov zameraných na gestačný diabetes.

POHLAVNÉ ROZDIELY A POHLAVNÉ HORMÓNY V ÚZKOSTI PODOBNOM SPRÁVANÍ STARNÚCIH POTKANOV

Domonkos E.¹, Borbélyová V.¹, Csongová M.¹, Bosý M.¹, Kačmárová M.¹, Ostatníková D.², Hodosy J.^{1,2,3}, Celec P.^{1,3,4,5}

¹Ústav molekulárnej biomedicíny, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava;

²Fyziologický ústav, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava; ³Biomedicínske

centrum, Slovenská akadémia vied, Bratislava; ⁴Ústav patologickej fyziológie, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava; ⁵Katedra molekulárnej biológie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava

Úvod: Pohlavné hormóny môžu prispievať k pohlavným rozdielom v prevalencii afektívnych porúch. Vplyv krátkodobého nedostatku pohlavných hormónov na správanie mladých zvierat bol skúmaný vo viacerých experimentoch. Pohlavné rozdiely v účinku dlhodobého hypogonadizmu na správanie u starnúcich zvierat sú však nedostatočne preštudované.

Metodika: Cieľom štúdie bolo skúmať pohlavné rozdiely v úzkosti podobnom správaní starnúcich potkanov a overiť, či sú tieto spôsobené endogénnymi pohlavnými hormónmi produkovanými u samcov. Úzkostné správanie samičiek, ako aj intaktných a gonadektomovaných (GDX) samcov sme testovali v teste otvoreného poľa, vo PhenoTyper klietkach, v teste vyvýšeného bludiska v tvare plus a v teste preferencie svetla a tmy. GDX samcom sa jednorazovo aplikoval estradiol, následne testosterón a nakoniec sa počas dvoch týždňov suplementoval estradiol. Zvieratá boli po každej liečbe znova testované v teste vyvýšeného bludiska v tvare plus.

Výsledky: Samice vykazovali signifikantne nižšiu mieru úzkosti ako samce vo väčšine behaviorálnych testov. Následkom dlhodobého androgénového deficitu iniciovaného pred pubertou pohlavné rozdiely v anxióznom správaní buď čiastočne (test otvoreného poľa, PhenoTyper) alebo úplne (test vyvýšeného bludiska v tvare plus) vymizli. Jednorazová aplikácia pohlavných hormónov, ani dvojtýždňová estrogénová suplementácia signifikantne neovplyvnili anxiózne správanie GDX samcov v teste vyvýšeného bludiska.

Záver: Výsledky štúdie potvrdzujú pohlavné rozdiely v úzkosti podobnom správaní starnúcich potkanov. Pravdepodobne, zvýšená anxieta samcov v porovnaní so samicami môže byť spôsobená endogénnou produkciou testosterónu u samcov. Na dosiahnutie klinickej relevancie výsledkov pre hormonálnu substitučnú liečbu u ľudí by bolo potrebné preskúmať účinky dlhobodej aplikácie exogénnych pohlavných hormónov.

Práca bola podporená grantmi No. UK/21/2015, UK/308/2016 a APVV 0539-12.

EFFECTS OF PIMEOME144 ON THE FIRING ACTIVITY OF RAT SEROTONIN AND NOREPINEPHRINE NEURONS

Dremencov E.^{1,2}, Csatlóssová K.¹, Ďurišová B.¹, Koprđová R.^{3,4}, Mach M.³

¹*Institute of Molecular Physiology and Genetics, Center for Biosciences, Slovak Academy of Sciences, Bratislava;* ²*Institute of Experimental Endocrinology, Biomedical Research Center, Slovak Academy of Sciences, Bratislava;* ³*Institute of Experimental Pharmacology and Toxicology, Slovak Academy of Sciences, Bratislava;* ⁴*Jessenius Faculty of Medicine, Comenius University Bratislava, Martin, Slovak Republic*

Introduction: PIMEOMe144 is a new pyridoindole derivative of the neuroleptic drug carbidine, designed at the Institute of Experimental Pharmacology and Toxicology of Slovak Academy of Sciences, and synthesized at the Faculty of Natural Sciences of Comenius University in Bratislava. It was previously reported that PIMEOMe144 has potential antidepressant properties in the serial of behavioral test in rats (Koprđová et al., Book of abstracts of 5th miniconference of PhD students, p 12, Bratislava, 2016). The aim of the current study was to investigate the efficacy of PIMEOMe144 as serotonin (5-HT) and norepinephrine (NE) reuptake inhibitor, using *in vivo* electrophysiology.

Methods: Adult Wistar male rats (300-400 g) were anesthetized with chloral hydrate (0.4 g/kg, i.p.). Glass electrodes filled with 2M NaCl were stereotaxically inserted into the dorsal raphe nucleus (DRN) or locus coeruleus (LC) for the recording of firing activity of 5-HT or NE neurons, respectively. After a 5-HT or NE neuron was identified and its basal firing activity was recorded, PIMEOMe144 was administered via the catheter placed in the lateral tail vein at the cumulative doses of 0.25-2.50 mg/kg. Following the PIMEOMe144 administration, selective 5-HT(1A) receptor antagonist WAY100135 (0.1 mg/kg) or selective α 2-adrenoceptor antagonist yohimbine (0.1 mg/kg) was administered. The effects of PIMEOMe144, WAY100135, and yohimbine on 5-HT and NE neuronal firing activity were assessed.

Results: PIMEOMe144 significantly and dose-dependently inhibited the firing of 5-HT neurons (0.75 mg/kg: 60%-inhibition; 1.50 mg/kg: 100%-inhibition). Significant 80%-inhibition of NE neuronal firing activity was observed after administration of 2.00 or 2.50 mg/kg of PIMEOMe144. The firing rates of 5-HT and NE neurons recovered to the values statistically undistinguishable from the baseline after the administration of WAY100135 or yohimbine, respectively.

Conclusion: Based on its ability to inhibit the firing rate of 5-HT and NE neurons, the efficacy of PIMEOMe144 as a 5-HT and NE reuptake inhibitor is comparable to this of venlafaxine (Beique et al., Synapse 32:198, 1999) and duloxetine (Rueter et al., Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol 357:600,1998), currently existing SNRIs. PIMEOMe144 can be therefore recommended, after careful screening of its safety, as an effective antidepressant and anxiolytic drug for clinical use.

ANTIARRHYTHMIC EFFECTS OF OMEGA-3 POLYUNSATURATED FATTY ACIDS AND ATORVASTATIN DEMONSTRATED IN ACUTE CONDITIONS ON PERFUSED RAT HEARTS

Egan Benova T.¹, Viczenczova C.¹, Knezl V.², Szeiffova Bacova B.¹, Tribulova N.¹

¹*Institute for Heart Research, SAS, Bratislava, Slovakia*, ²*Institute of Experimental Pharmacology and Toxicology, SAS, Bratislava, Slovakia*

Background: It has been already documented, that long-term treatment with selected statins and omega-3 fatty acids exhibit cardioprotective and antiarrhythmic effects in clinical practice. We have previously shown that prolonged treatment with these compounds reduced the incidence of ventricular fibrillation (VF) of hereditary hypertriglyceridemic (HTG) rats suffering from hypertension, likely due to modulation of cardiac electrical coupling protein connexin-43. To clarify further underlying antiarrhythmic mechanisms, this study was aimed to explore whether these compounds exert also acute antiarrhythmic effects.

Design and Methods: Experiments were conducted on adult, male and female HTG rats that are known to be much prone to VF compared with healthy rats. The hearts were excised from anesthetized rats and perfused with oxygenated Krebs-Henseleit solution at constant flow. VF inducibility was tested in control hearts and compared with the hearts, that were pre-treated during 10 min prior electrical stimulation with either atorvastatin, eicosapentanoic acid (EPA) or docosahexanoic acid (DHA) in concentration 1.5, 7, 15 μmol .

Results: Sustained VF was induced in all untreated HTG rat hearts. In contrast, the hearts subjected to atorvastatin, EPA and DHA were less susceptible to VF and the incidence of sustained VF was reduced to 30, 70 and 80% in male, and to 60, 75 and 60% in female rats. Atorvastatin suppressed VF inducibility in male rats in concentration 1.5 μmol , while EPA and DHA were efficient at concentrations 7 and 15 μmol . Bolus (150 μmol) of EPA and DHA administered directly to the fibrillating heart terminated VF in 6 out of 6 hearts and bolus of atorvastatin in 3 out of 6 hearts.

Conclusions: Atorvastatin, EPA and DHA exhibit clear antifibrillating and defibrillating efficacy when acutely applied. Findings emphasize the importance of pleiotropic effects of statins and omega-3 fatty acids in prevention of malignant arrhythmias.

This work was supported by grant from Slovak Society of Cardiology, VEGA 0076/12 and 2/0167/15.

VPLYV ROZNYCH FORIEM SELÉNU NA ZMENY BIOCHEMICKÝCH PARAMETROV V KRVI A NA METABOLIZMUS V BACHORE OVIEC

Faixová Z.¹, Piešová E.¹, Maková Z.¹, Čobanová K.², Faix Š.²

¹Ústav patologickej fyziológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie, Košice, ²Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, Košice, Slovenská republika

Selén je esenciálny stopový prvok, ktorý zohráva dôležitú úlohu v antioxidantných procesoch, reprodukcii, endokrinnom a imunitnom systéme zvierat. Vo väčšine krajín EU je obsah selénu v pôde v krmivách nízky (0,03 – 0,12 mg Se/kg sušiny), čo môže spôsobovať zdravotné problémy hlavne u mladých rastúcich zvierat. Z toho dôvodu je selén suplementovaný do krmiva vo anorganickej alebo organickej forme až do množstva 0,5 mg Se/kg sušiny krmiva. Existujú rozdiely vo využití organicky a anorganicky zabudovaného selénu u prežúvavcov.

Cieľom pokusu bolo sledovať vplyv skrmovania diét obsahujúcich rôzne formy selénu na metabolizmus v bachore, biochemické parametre v krvi a osmotickú rezistenciu erytrocytov u oviec. V experimente bolo použitých 18 oviec plemena slovenská valaška vo veku 18 mesiacov, ktoré boli rozdelené do troch skupín. Prvá skupina bola kŕmená bazálnou diétou, ktorá obsahovala 0,17 mg Se/kg sušiny. Druhá skupina bola kŕmená diétou, ktorá obsahovala bazálnu diétu obohatenú o 0,4 mg Se/kg sušiny vo forme seleničitanu sodného. Tretia skupina bola kŕmená bazálnou diétou, ktorá bola obohatená 0,4 mg Se/kg sušiny vo forme selenizovaných kvasníc. Zvieratá boli kŕmené diétami 3 mesiace.

Koncentrácia selénu v krvi a v bachorovom obsahu bola signifikantne zvýšená u oboch skupín obohatených selénom. Pri porovnaní Se suplementovaných skupín bola koncentrácia Se v krvi a v bachorovom obsahu signifikantne vyššia u oviec kŕmených diétou obohatenou selénom vo forme selenizovaných kvasníc. Aktivita glutatiónperoxidázy (GPx) v krvi bola signifikantne zvýšená u oboch experimentálnych diét, pričom neboli rozdiely medzi formami selénu. Osmotická rezistencia erytrocytov nebola ovplyvnená diétou obohatenou selénom. Výsledky práce naznačujú, že kŕmenie diétou obohatenou Se vo forme selenizovaných kvasníc alebo seleničitanu sodného zlepšujú status selénu v krvi a v bachorovej tekutine. Selén zo seleničitanu sodného je rovnako využitý ako selén zo selenizovaných kvasníc na GPx. Výsledky ukázali, že vplyv selénu na enzymatickú aktivitu v bachore závisí na forme selénu- GGT a GDH aktivita bola signifikantne vyššia u oviec suplementovaných selenizovanými kvasnicami a aktivita AST a ALP bola signifikantne vyššia v skupine oviec kŕmenej selénom vo forme seleničitanu sodného.

Práca vznikla s podporou VEGA grantu č. 1/0374/14.

ACTIVATION OF RISK SIGNALING PATHWAY IS INVOLVED IN CARDIOPROTECTIVE EFFECT OF REMOTE ISCHEMIC PRECONDITIONING IN SHR RATS

Farkašová V.¹, Griecsová L.¹, Muráriková M.¹, Čarnická S.¹, Lonek Ľ.¹, Ferko M.¹, Adameová A.², Ravingerová T.¹

¹*Institute for Heart Research, Slovak Academy of Sciences;* ²*Faculty of Pharmacy, Comenius University, Bratislava, Slovak Republic*

Background: Remote ischemic preconditioning (RIP) represents a novel form of innate cardioprotection conferred by short episodes of ischemia applied in a distant organ/tissue. RIP may also represent an effective protecting stimulus in the hearts of spontaneously hypertensive (SHR) rats. RIP has been shown to exert its cardioprotective effect by activating intrinsic pro-survival signaling cascades such as reperfusion injury salvage kinase (RISK) pathway in healthy animals, however, there is no evidence on this effect of RIP in hearts from SHR animals. Therefore the aim of this study was to investigate the role of RISK pathway activation in effect of RIP on cardiac tolerance to I/R in male SHR rats of different ages.

Methods: Rats of age three, five and eight months were anesthetized and RIP was performed on the right hind limb. Its protocol consisted of three cycles of 5-min non-invasive limb occlusion followed by 5-min reperfusion. Subsequently, hearts were excised, Langendorff-perfused and exposed to 30-min global I and 2-h R for the evaluation of reperfusion-induced ventricular arrhythmias, infarct size and recovery of contractile function. Tissue samples for Western Blot analysis were collected after 40 min of reperfusion.

Results: Enhanced resistance to myocardial infarction compared to non-preconditioned animals was observed in all experimental groups. Moreover, in three and five months old animals RIP exhibited antiarrhythmic effect, while its impact on severity of arrhythmias in eight months old SHR rats was negative. Protective effect of RIP was accompanied with increased Akt and GSK-3 β activation only in three and five months old animals, while in eight months old rats the Akt and GSK-3 β activity after RIP was not changed.

Conclusions: Cardioprotective effects of RIP in SHR rats show partial age-dependency, since in older adult animals, RIP decreased size of lethal injury but worsened arrhythmogenesis compared to younger individuals. These effects of RIP may be attributed to differences in activation of RISK pathway. RIP may influence various aspects of I/R injury in a different way.

Grants: APVV-15-0119, APVV-0102-11, APVV-15-0607, VEGA 2/0151/17, 2/0201/15 and 1/0271/16.

THE CHARACTERIZATION OF COMPRESSION MODEL OF TRAUMATIC SPINAL CORD INJURY

Fedorová J., Pavel J.

Institute of Neurobiology, Slovak Academy of Sciences, Košice, Slovakia

Introduction: Traumatic spinal cord injury represents a serious clinical problem affecting not only physical but mental health of patients as well. Up to present time, there is still no effective cure for trauma-injured spinal cord, which could recover a neurological function loss. The aim of our experiments was to characterize and optimize a compression model of spinal cord injury which sufficiently mimics a formation and progress of injury in human, with slow spontaneous regeneration of motor hind limb function and provides standard and reproducible results in anatomic, behavioral, physiological and molecular level.

Methods: Adult Wistar rats underwent a spinal cord compression at Th 9-10 level with 30g, 40g and 50g weights lasting 15 minutes. For the next 28 days, we were testing their locomotor hind limb function using BBB score. The nervous tissue compactness and the extent of damage were determined with the standard histological staining – Luxol fast blue combined with Cresyl violet and quantified by Image Tool 2.00 program. In the impact side and in its surrounding rostral and caudal regions, we quantified the expression of myelin basic protein (MBP), neurofilament (NF) and glial fibrillary acidic protein (GFAP) by western blot analysis.

Results: The largest extent of damage and tissue lost were determined in the impact site and it reduced to rostral and caudal direction. The rate of tissue damage was dependent on compression force. There was a strong positive correlation between the amount of spared tissue and BBB score in lesion site. The lowest amount of MBP and NF was found in the epicenter of injury, what reflect a significant damage of axons, the main structural components of white matter. The levels of both proteins gradually increase in rostro-caudal direction from lesion site. The highest GFAP expression was detected in the regions closest to the lesion site, while it gradually decreases in rostro-caudal direction.

Summary: On the basis of behavioral testing and histological and biochemical analysis as the most appropriate model was selected 40g compression lasting 15 minutes.

Supported by VEGA Grant No. 2/0160/16.

ŠTÚDIUM KARDIOPROTEKTÍVNYCH SIGNALIZAČNÝCH PROCESOV SRDCOVÝCH MITOCHONDRIÍ INICIOVANÝCH ÚČINKOM REMOTE ISCHEMICKÉHO PRECONDITIONINGU

Ferko M.¹, Kancirová I.¹, Jašová M.¹, Kucharská J.², Uličná O.², Vančová O.², Muráriková M.¹, Chytilová A.³, Hrdlička J.³, Ravingerová T.¹, Waczulíková I.⁴

¹Ústav pre výskum srdca, SAV, Bratislava, ²Farmakobiochemické laboratórium III. internej kliniky, Lekárska fakulta Univerzity Komenského, Bratislava, Slovenská republika, ³Fyziologický ústav, AV ČR, Praha, Česká republika, ⁴Katedra jadrovej fyziky a biofyziky, Fakulta matematiky, fyziky a informatiky, Univerzita Komenského, Bratislava, Slovenská republika

Úvod: Sledovali sme účinok neinvazívnej metódy tzv. remote ischemického preconditioningu (RIPC) na funkčnú remodeláciu srdcových mitochondriových (MIT) membrán a jeho kardioprotektívneho príspevku voči ischemicko-reperfúznemu (IR) poškodeniu.

Metodika: RIPC pozostával z troch cyklov 5 minútovej ischémie a 5 minútovej reperfúzie. Srdcia boli perfundované v Langendorffovom režime (15 minútová stabilizovaná perfúzia, 30 minútová globálna ischémia a 40 minútová post-ischemická reperfúzia). MIT Mg²⁺-ATPáza bola stanovená spektrometricky, fluiditu MIT membrán sme merali pomocou fluorescenčnej anizotropie. Obsah oxidovaných izoform koenzýmu Q (CoQ9ox a CoQ10ox) v izolovaných MIT bol stanovený metódou HPLC. Hladina interleukínu 10 (IL-10) a tumor nekrotického faktora alfa (TNF α) bola stanovená pomocou komerčného kitu ELISA (Rat TNF alpha ELISA, RAT IL-10 Platinum ELISA).

Výsledky: Zaznamenali sme 5,05 %-ný signifikantný ($p < 0,05$) nárast MIT membránovej fluidity v skupine s RIPC oproti kontrolnej skupine po reperfúzii. RIPC po reperfúzii spôsobil oproti kontrolnej skupine 6,95%-ný nárast MIT Mg²⁺-ATPázovej aktivity. Zaznamenané nesignifikantné zvýšenie oxidovaných foriem koenzýmov Q počas stabilizácie, sprostredkované vplyvom RIPC, naznačuje mierny nárast voľných radikálov, ktoré majú prevažne signálny charakter a iniciujú nástup protektívnych mechanizmov.

Záver: Zaznamenaný zvýšený trend koncentrácie IL-10 po IR poškodení v skupine podrobenej s RIPC naznačuje zapojenie protizápalových procesov do signalizačných mechanizmov endogénnej ochrany myokardu. Funkčná remodelácia MIT membrán vyvolaná vplyvom RIPC účinne prispieva k zvýšenej obnove myokardu po IR poškodení.

Práca bola podporená grantmi: APVV-15-0119; VEGA 2/0133/15, 2/0201/15

VPLYV IONIZUJÚCEHO ŽIARENIA NA KOGNITÍVNE FUNKCIE POTKANA LABORATÓRNEHO

Filová B.¹, Borbélyová V.², Bálentová S.³, Hajtmanová E.⁴, Hnilicová P.⁵, Kalenská D.⁵, Lehotský J.⁵, Adamkov M.³

¹Ústav lekárskej fyziky, biofyziky, informatiky a telemedicíny, Lekárska fakulta UK, Bratislava, ²Ústav molekulárnej biomedicíny, Lekárska fakulta UK, Bratislava, ³Ústav histológie a embryológie, Jesseniova lekárska fakulta UK, Martin, ⁴Univerzitná nemocnica v Martine, Ambulancia radiačnej onkológie, Martin, ⁵Ústav lekárskej biochémie, Jesseniova lekárska fakulta UK, Martin, Slovenská republika

Úvod: Ionizujúce žiarenie sa bežne používa pri liečbe mozgových nádorov. Výsledky naznačujú, že táto metóda je veľmi úspešná a prežívanie pacientov ukazuje zvyšujúcu sa tendenciu. Avšak na druhej strane, použitie rádioterapie môže spôsobovať rôzne neurologické komplikácie ako zhoršenie pamäti, problémy s priestorovou orientáciou, emočnú nestabilitu a depresiu niekoľko mesiacov až rokov po ukončení liečby. Komplikácie ale nenastávajú u všetkých pacientov, ktorí takúto liečbu podstúpili. Cieľom nášho experimentu bolo sledovať dlhodobé účinky ionizujúceho žiarenia na priestorové učenie a pamäť dospelých samcov potkana laboratórneho.

Metodika: Experiment sme uskutočnili na dvoch skupinách zvierat : kontrolná skupina (n=5) a experimentálna skupina (n=5). Dospelé samce experimentálnej skupiny zvierat sme počas anestézie ožiarili cranium frakcionovanou dávkou gama žiarenia 35 Gy (7 x 5 Gy). Po 90 dňoch od poslednej dávky boli potkany testované v nasledujúcich testoch: test otvoreného poľa, test rozpoznania nového objektu a Morrisovo vodné bludisko.

Výsledky: Potkany ožiarené frakcionovaným žiarením gama, prejavili významne zníženú lokomotorickú a exploračnú aktivitu v teste rozpoznania nového objektu. Ďalšie významné rozdiely v správaní zvierat sme nezaznamenali ani v teste otvoreného poľa, ani v Morrisovom vodnom bludisku.

Záver: Naše výsledky naznačujú, že ionizujúce žiarenie ovplyvňuje kognitívne funkcie u potkana laboratórneho, ale sú potrebné aj ďalšie štúdie na objasnenie celkového účinku rádioterapie na mozgové funkcie.

Práca bola podporená grantmi APVV-15-0205, UK/323/2016 VEGA 1/0129/16 a VEGA 1/0213/12.

VPLYV ENDOKRINNEJ SEKRÉCIE V TEHOTENSTVE NA FYZIOLOGIU SPÁNKU

Gáborová M.¹, Doničová V.², Donič V.¹, Bačová I.¹, Štimmelová J.¹, Grešová S.¹

¹Ústav lekárskej fyziológie, Košice, ²Diabetologická, interná a metabolická ambulancia Human-Care s.r.o, Košice, Slovenská republika

Úvod: Spánok tvorí takmer tretinu ľudského života, a preto je určite nepopierateľne dôležitým faktorom pri obnove fyzických a psychických funkcií ľudského organizmu. Cieľom našej práce bolo popísať vzájomný vzťah spánku a endokrinnnej sekrécie počas tehotenstva, teda obdobia zvýšenej citlivosti na záťaž. Počas gravidity niektoré hormóny stúpnu až na 1000 násobok svojej pôvodnej koncentrácie, a tak zodpovedajú za zmeny spánkovej architektiky gravidných.

Metodika: Analýza a spracovanie domácej a zahraničnej literatúry so zameraním na endokrinnú sekréciu v gravidite počas spánku, nakoľko v spánku sú typicky vylučované hormóny regulujúce jeho priebeh.

Výsledky: V tejto prehľadovej práci sa zaoberáme fyziológiou hormonálnej sekrécie počas spánku v gravidite, ktorá úzko súvisí so zmenami spánku, a tiež s vysokým rizikom vzniku spánkových porúch dýchania. Zvýšené množstvo progesterónu redukuje REM spánok a urýchľuje nástup NREM fázy spánku. Zvýšená koncentrácia estrogénov skracuje REM spánok, pôsobí vazodilatačne a vedie k vzniku nazálnej kongescie. Oxytocín stúpa hlavne v noci a to najmä v poslednom trimestri gravidity. Vplyvom jeho vzostupu je maternica stimulovaná, a tým dochádza k častému prebúdzaniu počas spánku. Tento zoznam patofyziologických vzťahov pokračuje.

Záver: Poznanie endokrinnnej sekrécie v spánku je dôležité pre pochopenie zmien vznikajúcich v gravidite vo vzťahu k spánku. Nie je dôležité len poznanie či pochopenie uvedených vzťahov, ale aj ich súvislosť s gestačným diabetes mellitus, gestačnou hypertenziou a ďalšími komplikáciami gravidity.

VYUŽITIE KMEŇOVÝCH BUNIEK V LIEČBE DIABETES MELLITUS

Gajdzik T.¹, Kalanin R.¹, Hulík Š.¹, Farkašová Iannaccone S.², Ginelliová A.², Petrášová D.³, Kaľuchová J.¹, Bober J.¹, Radoňak J.¹

¹I. chirurgická klinika LF UPJŠ a UNLP, ²Ústav súdneho lekárstva LF UPJŠ, ³Laboratórium výskumných biomodelov LF UPJŠ, Košice, Slovenská republika

Úvod: Hlavnou témou našej experimentálnej práce bolo dokázať, že mezenchymálne kmeňové bunky (MSC) sú perspektívnou a efektívnou možnosťou liečby diabetes mellitus (DM), ktorá so sebou prináša želaný terapeutický efekt v liečbe DM a zároveň výrazne nižšie riziko komplikácií v porovnaní so súčasným terapeutickými možnosťami.

Metodika: Do experimentu bolo zaradených 58 samcov potkanov rodu Wistar, z ktorých 8 jedincov bolo využitých na prípravu MSC z ich kostnej drene. Zvyšných 50 potkanov bolo náhodne rozdelených do 3 skupín podľa miesta transplantácie (Tx) MSC do pankreasu (hlava, chvost a difúzne do tkaniva) a do 2 kontrolných skupín (diabetická kontrolná skupina bez Tx MSC a nediabetická kontrolná skupina). DM bol indukovaný intraperitoneálnym podaním streptozotocínu a po 14 dňoch boli jednotlivým skupinám transplantované MSC, kontrolným skupinám bol difúzne do pankreasu podaný fyziologický roztok. Všetkým jedincom boli počas experimentu pravidelne monitorované hladiny glykémie a hmotnosť. Na 28. deň po Tx MSC boli všetky zvieratá usmrtené, následne im boli vykonané odbery pankreasov, ktoré boli v ďalšom kroku spracované klasickými histologickými metódami. V ďalšom priebehu experimentu sme pomocou imunohistochemickej analýzy sledovali prítomnosť imunitnej odpovede v tkanivách pankreasov použitím myšacích monoklonálnych protilátok proti povrchovým antigénom lymfocytov (CD4) a makrofágov (CD68 a CD163).

Výsledky: U diabetických potkanov liečených Tx MSC bol zaznamenaný významný pokles glykémii a hmotnostný prírastok v porovnaní s diabetickou kontrolnou skupinou. Za dodržania prístupov zaslepanej štúdie sme dospeli k záveru, že v žiadnej skupine zvierat zaradených do experimentu nebola zaznamenaná imunitná odpoveď po Tx MSC. Pozorovali sme iba minimálny výskyt makrofágov, ktorý sa však v danom množstve v tkanive dá považovať za fyziologický. Z nášho pozorovania vyplýva, že miesto Tx MSC do tkaniva pankreasu nezohráva úlohu ani v ovplyvnení liečebného efektu, ani z pohľadu imunitnej odpovede organizmu.

Záver: Závery nášho experimentu poukazujú na významný potenciál využitia MSC v liečbe DM, nakoľko je touto metódou efektívne liečený DM bez nutnosti podávania imunosupresív.

VYUŽITIE FLUORESCENČNEJ IN SITU HYBRIDIZÁCIE VO VETERINÁRNEJ MEDICÍNE

Galdíková M., Šiviková K., Schwarzbacherová V., Holečková B., Dianovský J.

Ústav genetiky, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach

Úvod: Fluorescenčná in situ hybridizácia (FISH) sa využíva u hospodárskych zvierat na identifikáciu abnormalít, komparatívna genomická hybridizácia a génové mapovanie je vhodná pre evolučné štúdiá identifikáciu konzervatívnych synténnych blokov medzi jednotlivými druhmi (Rubeš a kol., 2009). Používa sa tiež ako doplnková metóda pri testovaní genotoxicity chemických látok v kultivovaných lymfocytoch periférnej krvi. Na posúdenie vplyvu mutagénov je potrebné poznať frekvenciu spontánnych aberácií vystavených bežnej hladine látok v prostredí (Řezáčová a kol., 2003). V chovoch hospodárskych zvierat je zvlášť dôležité odhalenie nositeľov balansovaných chromozómových aberácií, ktorých príčinou je značne redukovaná plodnosť, najmä u hovädzieho dobytku a ošípaných (Ducos a kol., 2002).

Metodika: Preparáty pripravené konvenčnou cytogenetickou metódou boli denaturované formamidom a po následnej dehydratácii alkoholovou radou sa uskutočnila celonočná hybridizácia celochromozómovými sondami pre chromozómy 1,5 a 7. Nasledujúci deň bola nešpecificky naviazaná sonda premytá a preparáty boli ofarbené v DAPI. Výsledky boli vyhodnocované pomocou fluorescenčného mikroskopu pomocou duálneho filtra FITC/Texas Red. Pre štatistické vyhodnotenie chromozómových aberácií bol použitý χ^2 test.

Výsledky: Pri hodnotení spontánnej hladiny aberácií sme zaznamenali len numerické aberácie, bez štatistickej významnosti. V jednom prípade sme zistili, že donor je nositeľom Robertsonovej translokácie 59,XY, rob (1;29).

Záver: V cytogenetických štúdiách FISH technika vhodne dopĺňa konvenčnú analýzu o detekciu stabilných aberácií, ktoré nie je možné detegovať klasickými metódami. Za jednu zo závažných kritérií v karcinogéneze sa považuje chromozómová instabilita a aneuploidie (Duesberg a Rasnick, 2000). Metódou FISH je možná aj identifikácia numerických aberácií, typu polyploidii a aneuploidii alebo chromozómových prestavieb – translokácií; nositelia takýchto translokácií (Robertsonovej u hovädzieho dobytku alebo recipročnej u ošípaných) majú normálny fenotyp, no výrazne zníženú plodnosť v dôsledku produkcie tzv. nevyvážených gamét, t.j. nerovnomerného rozdelenia homologického páru s translokovaným chromozómom/alebo chromozómovým úsekom.

Podakovanie: Táto práca bola podporená projektmi VEGA 1/0043/15 a 1/0176/16

INSECT MODEL SPECIES AND THEIR MUTANTS USED FOR ADIPOKINETIC HORMONE STUDIES

Gautam, U. K., Ibrahim E., Zemanová M., Hejníková M., Žurovec, M. and Kodrík, D.

Institute of Entomology, Biology Centre, Czech Academy of Sciences and Faculty of Science, South Bohemian University, České Budějovice, Czech Republic

Introduction: Insect adipokinetic peptides (AKH) are typical stress hormones stimulating catabolic reactions, mobilising lipids, carbohydrates, and proline to provide energy. However, they are pleiotropic in their roles, with a number of other actions: they stimulate heart beat and general locomotion, regulate starvation-induced foraging behaviour, participate in the activation of antioxidant mechanisms, enhance food intake and digestive processes in insect gut, and interact with the humoral and cellular immune systems. AKH functions are usually studied by topical or injection application of the hormone into the insect body, or by preparing insect mutants with AKH production deficiency or AKH-receptor dysfunction.

Method: Mutants of three insect species were prepared for the study. Transcription activator-like effector nuclease (TALEN) mutagenesis was employed to prepare AKH-deficient individuals of the fruit fly *Drosophila melanogaster* and AKH-receptor-deficient silkworms *Bombyx mori*. In the firebug *Pyrrhocoris apterus* the AKH-receptor was knocked down by RNA mediated interference (RNAi). Various markers – mortality, oxidative stress, gene expression etc. – were monitored using the mutants.

Results: The presence of mutations was checked either by PCR or by determination of the corresponding gene products using the ELISA and specific antibodies. Results revealed a role of AKH in the anti-oxidative stress response: relative expression of glutathione S-transferase gene in *D. melanogaster* under oxidative stress elicited by paraquat (oxidative stressor) was significantly lower in AKH-deficient mutants than that in control flies. Additionally, the mutant flies showed higher mortality to the same agent than the control ones. On the other hand, it seems that the decline of total metabolic rate monitored by carbon dioxide production in the firebug *P. apterus* with AKH-deficient production was responsible for the decrease of mortality elicited by toxins produced by entomopathogenic nematodes or their bacteria.

Conclusion: It has been proven that suitable mutants with deficiency in production of AKH or AKH-receptor represent an important tool for the study of AKH roles in insect organism; their use confirms the data obtained by application of synthetic hormones into the body.

The study was supported by grant 17-03253S (DK) from the Czech Science Foundation

HYPERTENZNÍ PACIENTI S OBŠTRUKČNÝM SPÁNKOVÝM APNOE

Grešová S.¹, Štimmelová J.¹, Švorc P.¹, Bačová I.¹, Gáborová M., Pergerová Z.², Donič V.¹
¹Ústav lekárskej fyziológie, Lekárska fakulta UPJŠ, ²Študentka 6. ročníka odbor všeobecné lekárstvo, LF UPJŠ, Košice, Slovenská republika

Úvod: 30 až 40% hypertenzných pacientov má obštrukčné spánkové apnoe (OSA) a 50 až 56% OSA pacientov má hypertenziu. Súvislosť medzi OSA a hypertenziou sa sleduje od roku 1970, pričom je veľmi ťažké ju vyhodnotiť.

Cieľ: Cieľom práce bolo monitorovanie rozdielov plným polysomnografickým vyšetrením u hypertenzných pacientov so syndrómom obštrukčného spánkového apnoe v spánkovom laboratóriu.

Súbor a metodika. Súbor predstavuje 100 subjektov vyšetrených v roku 2014 v spánkovom laboratóriu LF UPJŠ v Košiciach. Pri polysomnografickom bolo monitorovaných viac ako 20 elektrofyziologických a kardiorespiračných parametrov. Súčasťou vyšetrenia bolo aj meranie tlaku krvi pacientov, a to večerný systolický (SBP2) a diastolický (DBP2) krvný tlak a ranný systolický (SBPm) a diastolický (DBPm) tlak krvi. Podľa stupňa závažnosti OSA na základe hodnôt apnoicko-hypopnoického indexu (AHI) boli pacienti s hypertenziou rozdelení do štyroch skupín, ktoré boli navzájom porovnávané: 1. AHI < 5 /h.TST (n=7), 2. AHI 5-15 /h.TST (n=10), 3. AHI 15-30 /h.TST (n=14), 4. AHI > 30 /h.TST (n=28). Podľa užívania/neužívania antihypertenznej liečby: 1. pacienti s HT, ktorí užívajú antihypertenznú liečbu (n=46), 2. pacienti s HT, ktorí neužívajú antihypertenznú liečbu (n=13).

Výsledky: Apnoicko hypopnoický index pozitívne koreloval s pohlavím pacienta ($r=0,313$), s Arousal indexom ($r=0,703$), s priemernou dobou trvania apnoe v sekundách ($r=0,580$), s desaturačným indexom ($r=0,881$), so systolickým ($r=0,307$) a s diastolickým ($r=0,370$) krvným tlakom, ktoré boli u pacientov namerané v ranných hodinách.

Záver: Výsledky práce potvrdzujú literárne údaje, že stupeň závažnosti AHI pozitívne koreluje so systolickým a diastolickým tlakom nameraným v ranných hodinách. Meranie krvného tlaku pred plnou polysomnografiou umožňuje včas podchytiť arteriálnu hypertenziu bez klinických príznakov pričom jej rýchla diagnostika a liečba vedie k oddialeniu kardiovaskulárneho rizika.

REDOXNÁ REGULÁCIA MITOCHONDRIOVÝCH CHLORIDOVÝCH KANÁLOV

Grman M.¹, Havlíková J.^{1,2}, Mišák A.¹, Tomášková Z.³

¹Ústav klinického a translačného výskumu, Biomedicínske centrum SAV, Bratislava, ²Fakulta matematiky, fyziky a informatiky, Univerzita Komenského, Bratislava, ³Ústav molekulárnej fyziológie a genetiky, Centrum biovied SAV, Bratislava, Slovenská republika

Úvod: Mitochondrie sú typickým príkladom bunkových organel, ktorých funkcia je úzko spätá s udržiavaním redoxnej rovnováhy. Zmena redoxného stavu mitochondrií vedie k zmene bunkového metabolizmu, čo je kľúčové pri vzniku kardiovaskulárnych ochorení. Tvorba kyslíkových radikálov má za následok zmenu pomeru redukovanej a oxidovanej formy glutatiónu (GSH a GSSG), čo môže ovplyvniť funkciu mitochondriových proteínov. K týmto proteínom patria aj iónové kanály, ktorých porucha často vedie k vážnemu poškodeniu buniek alebo dokonca k ich smrti.

Metodika: Mitochondrie sme izolovali zo srdca potkanov kmeňa Wistar. Pre získanie čistej frakcie mitochondrií sme použili diferenciálnu centrifugáciu v Percoll gradiente s následnou sonikáciou, čím sme získali frakciu submitochondriových vezikúl (SMP). Na sledovanie jedнокanálových (tzv. „single-channel“) charakteristík sme použili metódu inkorporácie iónových kanálov do planárnej lipidovej dvojvrstvy (BLM, z angl. bilayer/black lipid membrane). Ako iónový gradient sme použili roztok 250/50 mmol/L KCl s pH 7,4.

Výsledky: Redoxnú reguláciu chloridových kanálov sme sledovali aplikovaním GSH, GSSG a ditiotritolu (DTT), reduktanta disulfidových väzieb, na obe strany kanálu (tzv. cis a trans strana). Rôzne pomery GSH:GSSG z cis a trans strany nemali na kanál žiadny efekt, rovnako ako aj zvyšujúca sa koncentrácia DTT z cis strany. Koncentrácia DTT 500 μ mol/L, aplikovaná do trans oddielu, spôsobila zvýšenie reverzného potenciálu. Skúmaním napät'ovej závislosti mitochondriových chloridových kanálov sme zistili, že sú napät'ovo závislé – s rastúcim kladným napätím sa zvýšila pravdepodobnosť otvorenia kanálu.

Záver: Prezentované výsledky nepreukázali významnú redoxnú reguláciu mitochondriových chloridových kanálov, avšak ich napät'ová závislosť poukazuje na ich dôležitú úlohu v regulácii transmembránového potenciálu a tým aj v energetickom metabolizme buniek.

Práca bola podporená grantom VEGA/2/0146/16 a APVV-15-0371.

GENETICKÉ VARIANTY ANO3 U PACIENTOV S CERVIKÁLNOU DYSTÓNIOU

Habalová V.¹, Haň V.^{2,3}, Klimčáková L.¹, Škorvánek M.^{2,3}, Židzik J.¹, Gdovinová Z.^{2,3}

¹Ústav lekárskej biologie, LF UPJŠ, Košice, ²Neurologická klinika, LF UPJŠ, Košice,

³Neurologická klinika UN L. Pasteura, Košice, Slovenská republika

Úvod: Cervikálna dystónia predstavuje hyperkinetickú poruchu hybnosti charakterizovanú sťahmi šijového svalstva, ktoré vedú k abnormálnym pohybom alebo k udržiavaniu neprirodzenej postúry hlavy. Jej prevalencia sa odhaduje na 28-183 prípadov/milión a častejšie postihuje ženy (2/3 pacientov). V etiopatogenéze ochorenia sa uplatňuje kombinácia genetických a epigenetických faktorov. Zoznam génov asociovaných s dystóniou sa z roka na rok rozširuje, pričom populačná prevalencia ich variantov a variácia fenotypového spektra nie je zatiaľ dostatočne preskúmaná. V našej štúdii sme sa zamerali na výskyt variantov v géne pre anoctamin 3 (ANO3) lokalizovanom na chromozóme 11, pozostávajúceho z 27 exónov, a vysokou expresiou v striate.

Metodika: Po získaní informovaného súhlasu bolo do štúdie zaradených 32 pacientov (5 mužov, 27 žien, priemerný vek celej vzorky 59,0±14,7 rokov) zo špecializovanej neurologickej ambulancie zameranej na liečbu dystónie. Priemerný vek vzniku dystónie (presne známy u 14 pacientov) bol 43,1±15,0 rokov (min. 13 a max 66 rokov). Po izolácii DNA zo vzorky periférnej krvi bolo priamou Sangerovou sekvenáciou analyzovaných 27 exónov s príslušnými intrónovými a 5'-UTR aj 3'-UTR oblasťami. Predikcia dôsledkov zaznamenaných variantov bola testovaná pomocou softvéru MutationTaster.

Výsledky: U našich pacientov nebol potvrdený výskyt doposiaľ v literatúre popísaných 13 missense mutácií nachádzajúcich sa v exónoch. V našom súbore boli zachytené v populácii veľmi zriedkavé (frekvencia minoritnej alely <0.01) alebo ešte nepopísané varianty v intrónových oblastiach. Jeden z intrónových variantov sa nachádza v zostrihovej oblasti na hranici exónu a intrónu a bol softvérom vyhodnotený ako variant potenciálne spôsobujúci ochorenie. Nájdené raritné varianty v 3'-UTR oblasti sa podľa softvéru nachádzajú v hypersenzitívnej oblasti pre DNázu I, ktorá ovplyvňuje transkripčnú aktivitu.

Záver: Podľa našich predbežných zistení do etiopatogenézy pravdepodobne zasahujú nielen zriedkavé exónové varianty, ale aj varianty v intrónoch alebo UTR oblasti génu ANO3. Pre overenie týchto zistení by boli potrebné ďalšie rozsiahlejšie štúdie či funkčné analýzy.

Práca bola podporená grantom VEGA-1/0724/15

VPLYV POTRAVOVEJ ODMENY NA EXPRESIU HODINOVÝCH A HODINAMI KONTROLOVANÝCH GÉNOV V CENTRÁLNO M A PERIFÉRNÝCH OSCILÁTOROCH POTKANA

Herichová I., Lukáčová D., Kavická D., Voglová K.

Katedra živočíšnej fyziológie a etológie Prírodovedeckej fakulty UK, Bratislava, Slovenská republika

Cirkadiálny systém je hierarchicky organizovaný a pozostáva z centrálného oscilátora v SCN a periférnych oscilátorov prítomných vo všetkých ostatných tkanivách. Molekulárna podstata činnosti cirkadiálneho oscilátora je založená na expresii hodinových génov, ktorých proteínový produkt inhibuje expresiu svojej mRNA. Najsilnejším oscilátorom pre centrálny oscilátor je rytmus striedania sa svetla a tmy. Pre periférne oscilátory je najvýznamnejším synchronizátorom rytmus dostupnosti potravy a to predovšetkým v podmienkach potravej reštrikcie. Okrem týchto synchronizujúcich faktorov je cirkadiálny systém susceptibilný aj na iné synchronizujúce vplyvy, napr. potravová odmena.

V súčasnosti je populácia v ekonomicky vyspelých krajinách vystavovaná nepravidelnostiam v expozícii synchronizujúcich vplyvov, čo vedie k deregulácii cirkadiálneho systému. Naším cieľom bolo preskúmať možnosť stabilizácie činnosti cirkadiálneho systému neinvazívnou metódou pravidelného poskytovania potravej odmeny.

Na modeli laboratórneho potkana sme testovali vplyv potravej odmeny podávanej počas svetlej fázy 24h cyklu na expresiu hodinových a vybraných hodinami regulovaných génov v SCN, frontálnom kortexe, dorzomediálnom hypotalame, nuclues arcuatus a v pečeni. Okrem exprese hodinových génov bola monitorovaná plazmatická hladina glukózy a mastných kyselín a pohybová aktivita. Účinok potravej odmeny na SCN bol porovnávaný s vplyvom svetelných pulzov.

Naše výsledky dokazujú, že potravová odmena má benefičný vplyv na činnosť centrálného cirkadiálneho systému a to aj v prípade, že je poskytovaná v pasívnej fáze 24h cyklu. Dorzomediálny hypotalamus považujeme za integrátor vplyvu synchronizujúcich účinkov svetelných pulzov a potravej odmeny. Nazdávame sa, že frontálny kortex je taktiež zahrnutý v procese akceptovania potravej odmeny. Potravová odmena podľa našich výsledkov významne neovplyvnila reguláciu apetítu a metabolické procesy v pečeni.

Tento príspevok vznikol s podporou grantov: VEGA 1/0499/15 a APVV-0291-12.

EFFECT OF INULIN IN PREVENTION OF COLON CANCER DEVELOPMENT

Hijová E., Štofilová J., Strojný L., Bertková I., Chmelárová A., Bomba A.

Institute of Experimental Medicine, Medical Faculty, University of P. J. Šafárik, Košice, Slovak Republic

Introduction: Prebiotics are generally defined as the selective stimulating of growth and activity of one or limited number of microbial species in the gut microbiota, that confer health benefits to the host. Our first real contact with prebiotics is from birth in the form of breast milk and infant formulas, later as a dietary supplement or natural dietary compounds that modulate microbial composition a could be used in the prevention of diseases. Anticarcinogenic effect of inulin and the influence of inulin administration on microbial, biochemical, chemopreventive and inflammatory markers in dimethylhydrazine (DMH) induced colorectal cancer development in Sprague-Dawley rats was investigated.

Methods: Sprague-Dawley rats four months old were used in experimental DMH induced colon cancer development. Rats were randomly assigned to groups: control group (CG), group with DMH (DMH) and group with combination of DMH and prebiotic (DMH+PRE). The efficacy of the prebiotic inulin on the activities of bacterial glycolytic enzymes, short chain fatty acids (SCFA), counts of coliforms and lactobacilli, cytokine levels (IL-2, IL-10, TNF α), immunoreactivity of cyclooxygenase-2 (COX-2), transcription nuclear factor kappa beta (NF κ B) were measured.

Results: Inulin significantly decreased coliforms counts ($p < 0.01$), increased lactobacilli counts ($p < 0.001$), decreased activity of β -glucuronidase ($p < 0.01$). Butyric and propionic concentrations were decreased in DMH group, but inulin positively increased its concentration in comparison to DMH group. Inulin decreased numbers of COX-2 and NF κ B positive cells in the tunica mucosae and tela submucosae of colon tissue, concentration of proinflammatory IL-2 and TNF α , stimulated regulatory IL-10.

Conclusion: Dietary intake of prebiotic inulin reduces the preneoplastic changes, suppressed expression observed markers, which have an important role in carcinogenesis and in the inflammatory process, which predisposes to the use of inulin in prevention colon cancer development or treatment of chronic diseases.

Supported by project PROBIO ITMS 26220220104 and grant VEGA 1/0309/16, VEGA 1/0896/15

MOŽNOSTI SKRÍNINGU PORÚCH AUTISTICKÉHO SPEKTRA V SLOVENSKEJ POPULÁCI

Hnilicová S.^{1,2}, Celušáková H.^{1,2}, Babinská K.¹, Pivovarčiová A.¹, Vidošovičová M.¹, Kubranská A.¹, Filčíková D.¹, Ostatníková D.¹

¹Fyziologický ústav LF UK, Bratislava, Slovenská republika; ²Prví dvaja autori participovali na publikácii rovnakým dielom.

Úvod: Poruchy autistického spektra (PAS) sú skupina neurovývinových ochorení charakterizovaná deficitom v sociálnej komunikácii a prítomnosťou reštriktívneho, repetitívneho správania. Prevalencia PAS je v rozvinutých krajinách odhadovaná na 1 dieťa zo 68. Prevalencia PAS na Slovensku doposiaľ nie je známa. Prognóza pacientov s týmto ochorením je závislá na včasnej diagnóze a intervencii. Na Slovensku je vek stanovenia diagnózy oneskorený (priemer v našej vzorke bol 4,5 roka). Bez aktívneho skrínungu je pravdepodobnosť zachytenia PAS počas preventívnych prehliadok vykonávaných pediatrom nízka. Podľa medzinárodných štúdií je M-CHAT vhodná skrínungová metóda na použitie v primárnej starostlivosti.

Metodika: Cieľom nášho výskumu bolo posúdiť účinnosť skrínungu PAS s použitím dotazníku M-CHAT na vzorke slovenskej populácie a porovnať ho s objektívnymi diagnostickými nástrojmi ako sú ADOS-2 a ADI-R. Do štúdie bolo zahrnutých 72 detí vo veku 1,5 až 6 rokov, ktorí boli prihlásení rodičmi na vyšetrenie PAS na LFUK od roku 2013 do roku 2016. Všetkým deťom bol urobený skrínung na riziko PAS pomocou dotazníku M-CHAT, ktorý vyplnil jeden z rodičov a následne boli vyšetrení certifikovanými diagnostikmi za použitia ADI-R a ADOS-2.

Výsledky: Zaznamenali sme štatisticky významný rozdiel v celkovom skóre M-CHAT medzi skupinou detí s PAS a bez PAS diagnostikovaných s použitím ADOS a ADI-R ($p < 0,001$). Dve z troch diagnostických domén ADI-R, skóre pre kvalitatívne abnormality v komunikácii a abnormality v recipročnej sociálnej interakcii významne korelujú s celkovým skóre M-CHAT ($p < 0,05$). To tiež koreluje s celkovou mierou príznakov v ADOS, ako i so skóre pre komunikáciu a vzájomnú sociálnu interakciu a skóre reštriktívneho a repetitívneho správania v ADOS. Naopak, nezistili sme žiadnu významnú koreláciu medzi celkovým skóre M-CHAT a doménou merajúcou reštriktívne a repetitívne správanie v ADI-R.

Záver: Naše výsledky na vzorke slovenských detí preukázali, že celkové skóre v M-CHAT môže byť použité na odlíšenie detí s rizikom PAS a bez PAS. Tiež koreluje so všeobecne uznávanými objektívnymi metódami v oblasti diagnostiky PAS, a to s ADOS, ADI-R. V budúcnosti bude potrebný ďalší výskum na stanovenie senzitivity a špecificity M-CHAT v slovenskej populácii.

Práca bola podporená grantom: APVV-0254-11, APVV-15-0085 a APVV-15-0045.

VPLYV RESVERATROLU NA ŽELEZO POČAS ZÁPALU ČREVA

Hlinková J.¹, Svobodová H.¹, Wagnerová A.^{1,2}, Kopáni M.¹

¹Ústav lekárskej fyziky, biofyziky, informatiky a telemedicíny, Lekárska fakulta Univerzity Komenského; ²Ústav molekulárnej biomedicíny, Lekárska fakulta Univerzity Komenského, Bratislava, Slovenská republika

Úvod: Zápalové črevné ochorenia ako ulcerózna kolitída a Crohnova choroba sú charakteristické závažnými poškodeniami sliznice čreva. Železo býva prítomné v oblastiach rakovinového bujenia i zápalu, kde napomáha rastu baktérií. Resveratrol (RSV) je prírodný polyfenol, s dokázanými protizápalovými účinkami. Vo viacerých štúdiách bol jeho efekt preukázaný aj vo zvieracích modeloch kolitídy. V tomto pokuse sme sa sústredili na vplyv RSV na zápal čreva v kombinácii s prítomnosťou železa v sliznici čreva. Predkopládali sme, že RSV bude znižovať mieru zápalu a poškodenia čreva aj prítomnosť železných zhlukov

Materiál a metódy: Myši kmeňa C57BL/6 (21 samíc a 17 samcov) boli udržiavané v kontrolovaných podmienkach s 12/12 hodinovým cyklom, ad libitum prístupom k vode a potrave. Vo veku 14. týždňov boli náhodne rozdelené do 3 skupín podľa pohlavia. Kontrolnej skupine bola ad libitum podávaná voda, ďalším dvom skupinám bola navodená kolitída vodným roztokom 1,5% dextransulfátu sodného (DSS) miesto pitnej vody počas 12 dní. Posledný deň bola všetkým skupinám podávaná voda. Skupina RSV bola vytvorená podávaním RSV rozpustenom v 50% etanole v koncentrácii 100mg/kg odo dňa 0 po deň 11 gastrickou sondou. Myšiam bola denne kontrolovaná hmotnosť a stolica, hovoriace o postupe vývoja kolitídy. Myši boli usmrtené v deň 13 a boli im odobraté vzorky čreva do 4% formalínu. Vzorky boli štandardne histologicky spracované a farbené hematoxylín-eozínom na prejavy zápalu a HCl a ferokyanidom draselným na prítomnosť železa. Zhluky železa boli prepočítané priemerne na vzorku na skupinu a výsledky boli štatisticky analyzované dvojfaktorovou analýzou variancie

Výsledky: Železo sa častejšie objavovalo v extracelulárnych štruktúrach. Vo vzorkách DSS skupiny sme ho pozorovali vo zvýšenej miere oproti kontrolnej skupine. U samíc mal RSV tendenciu znižovať výskyt železných zhlukov, u samcov, naopak, zvyšovať železné zhluky s rozdielom pozorovaným hlavne v svalovine. Najčastejšie sme pozorovali železo v klkoch, menej často v svalovine a najmenej v submukóze čreva.

Záver: Resveratrol má vplyv na výskyt železa v čreve v myšacom modeli kolitídy.

VZŤAH UVOĽŇOVANIA VÁPNIKA A INAKTIVÁCIE VÁPNIKOVÉHO PRÚDU VO VÄZBE EXCITÁCIE S KONTRAKCIOU

Hoffmannová B., Poláková E., Zahradníková Jr., A., Zahradníková A., Zahradník I.

Centrum Biovied, Ústav molekulárnej fyziológie a genetiky, Slovenská Akadémia Vied, Bratislava, Slovenská republika

Úvod: Pre správnu funkciu srdcového svalu je nevyhnutná koordinácia kontrakcie svalových buniek, ktorá vyžaduje spoľahlivý mechanizmus regulácie vstupu vápnika do cytoplazmy počas kontrakčno-relaxačného cyklu. Dôležitým prvkom regulácie je mechanizmus spätnej väzby založený na inaktivácii vápnikového prúdu iónmi vápnika uvoľnenými zo sarkoplazmatického retikula. V tejto práci sa zameriavame na účinok lokálneho uvoľnenia vápnika na rozsah inaktivácie vápnikového prúdu.

Metodika: Vápnikové prúdy boli merané metódou patch-clamp v konfigurácii z celej bunky. Uvoľňovanie vápnika v izolovaných komorových srdcových svalových bunkách potkanov bolo indukované depolarizáciou štandardným napäťovým pulzom alebo pomocou dvojpulzového protokolu, kde bol testovaciemu pulzu priradený krátky predpulz rôznej dĺžky alebo amplitúdy. Vápnikové hroty boli merané laserovou skenovacou konfokálnou mikroskopiou s použitím 0,1 mM fluo-3 a 1 mM EGTA vo vnútrobunkovom roztoku. Rozsah a kinetika inaktivácie vápnikového prúdu závislej na uvoľnení vápnika (RDI mechanizmus) boli určené fitovaním priebehu vápnikového prúdu.

Výsledky: Závislosť rozsahu RDI (fRDI) na priemernej amplitúde vápnikových hrotov (A) bolo možné opísať Hillovou rovnicou pri jednopulzovom protokole a lineárnou funkciou pri dvojpulzovom protokole ($R = 0,87$). Pri zvýšenej latencii uvoľňovania vápnika sa znižoval rozsah inaktivácie vápnikových prúdov spôsobenej RDI mechanizmom v jednopulzovom protokole ($R = -0,69$). Rozsah RDI koreloval lineárne s pravdepodobnosťou aktivácie vápnikových hrotov v predpulze ($R = 0,95$). Rýchlosť RDI (kRDI) bola nepriamo úmerná ($R = -0,57$) a oneskorenie RDI (dRDI) bolo priamo úmerné latencii uvoľnenia vápnika ($R=0,4$). Vplyv amplitúdy Ca-hrotov na kRDI ani na dRDI nebol významný a oba parametre len slabito záviseli na synchronizácii Ca-hrotov.

Záver: Rozsah inaktivácie vápnikového prúdu, závislej na uvoľnení vápnika (RDI) narastá s pravdepodobnosťou aktivácie vápnikových hrotov a s amplitúdou uvoľnenia vápnika, pričom sa znižuje so zvyšujúcou sa latenciou vápnikových hrotov. Celková inaktivácia vápnikového prúdu je teda výsledkom lokálneho charakteru uvoľňovania vápnika zo sarkoplazmatického retikula.

Práca je podporovaná grantami VEGA 2/0143/17, VEGA 2/0095/15, APVV-15-0302

INDUKCIA FRAGMENTÁCIE DNA PESTICÍDMI

Holečková B., Šiviková K., Schwarzbacherová V., Galdíková M., Dianovský J., Kováčová S.
Ústav genetiky, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie, Košice, Slovenská republika

Úvod: Mnohé pesticídy sú považované za potenciálne mutagény, ktoré indukujú génové mutácie, chromozómové aberácie alebo poškodenie DNA (Bolognesi a Morasso, 2000). Ku skupine živočíchov priamo vystavených účinkom pesticídov patria voľne žijúce a pasúce sa zvieratá, u ktorých sa pôsobenie chemických látok môže prejavovať najmä v oblasti reprodukcie a odolnosti voči ochoreniam. Cieľom práce bolo sledovanie apoptotických zmien v podobe fragmentácie DNA v kultivovaných lymfocytoch periférnej krvi dobytka po aplikácii dvoch rôznych druhov komerčných pesticídnych prípravkov.

Metodika: Krv štyroch zdravých býčkov (6-8 mesační) bola kultivovaná v médiu RPMI 1640 (Sigma, St. Louis, MO, USA) s 1ml bovinného fetálneho séra (BOFES, Sigma, St. Louis, MO, USA), penicilínom 10 000 U.ml⁻¹, streptomycínom 10 mg. ml⁻¹, amfotericínom B 25 µg.ml⁻¹ a fytohemaglutinínom (PHA, 180 µg. ml⁻¹, Welcome, Dartford, Germany). 24 h pred ukončením doby kultivácie (72 h) boli ku kultúram pridané pesticídy v koncentráciách 30; 60; 120; 240 a 480 µg.ml⁻¹ pre insekticíd Calypso 480SC (tiakloprid 480 g.l⁻¹, Bayer AG, Germany) a 0,5; 3,0 a 15 µg.ml⁻¹ pre fungicíd TangoâSuper (fenpropimorph 250 g.l⁻¹ a epoxikonazol 84 g.l⁻¹, Slovensko). DNA bola z buniek izolovaná pomocou Apoptotic DNA Ladder kitu (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) a analyzovaná pomocou elektroforézy na 1% agarózovom géli (1h 30 min., 75V, 1xTAE, GelRedTM Biotinum). Výsledky boli zaznamenané pomocou dokumentačného systému D1-HD (Major Science).

Výsledky: Fragmentáciu DNA sme zaznamenali pri všetkých testovaných koncentráciách insekticídu Calypso 480SC (30-480 µg.ml⁻¹; 24 h pôsobenie). Podobne fungicíd Tangoâ Super indukoval fragmentáciu DNA v lymfocytoch dobytka po 24 h pôsobení každej z aplikovaných koncentrácií (0,5-15 µg.ml⁻¹).

Záver: Fragmentácia DNA je dobre rozlíšiteľnou fázou apoptózy, preto je jej detekcia používaná ako semikvantitatívna metóda zisťovania apoptických zmien spôsobených chemickými látkami. Dosiahnuté výsledky poukázali na schopnosť nami sledovaných pesticídnych prípravkov indukovať vznik špecifických fragmentov DNA, markerov apoptózy, v kultúrach bovinných lymfocytov.

Práca bola podporená grantom VEGA č. 1/0043/15 a 1/0176/16.

VLIV PERINATÁLNÍHO STRESU A DROGOVÉ ZÁVISLOSTI NA MATEŘSKÉ CHOVÁNÍ A VÝVOJ MLÁĎAT LABORATORNÍHO POTKANA

Holubová A., Ševčíková M., Macúchová E., Hřebíčková I., Šlamberová R.

Ústav normální, patologické a klinické fyziologie, 3. LF UK, Praha, Česká republika

Úvod: Dle statistických údajů přechází řada drogově závislých žen během těhotenství z jiných tvrdých drog na metamfetamin (MA). Dlouhodobá aplikace drog v průběhu těhotenství může zapříčinit zhoršené mateřské chování a opožděný vývoj u potkaních mláďat. Stres a drogová závislost jsou úzce spojeny. Mateřská deprivace, sociální stres a zanedbávání v raném věku jsou spojeny s poruchami chování u lidí a zvířat. Cíl této práce je zhodnotit vliv perinatálního stresu na vývoj potomků prenatálně ovlivněných MA a mateřské chování jejich matek.

Metodika: Samice byly rozděleny do tří skupin dle aplikace drogy v průběhu gravidity: kontroly (C); fyziologický roztok (s.c.; SA); MA (s.c. 5 mg/kg). Stres byl aplikován od postnatálního dne (PD) 1 do PD21. V den porodu (PD0) byla mláďata rozdělena do čtyř skupin dle typu postnatálního stresu: a) kontroly; b) sociální stres prostřednictvím mateřské separace (3h denně); c) fyzikální stres prostřednictvím plavání ve studené vodě (5 min denně); d) sociální a fyzikální stres. Zjišťovali jsme vliv drogy a stresu na mateřské chování a postnatální vývoj mláďat.

Výsledky: Zatímco stres negativně ovlivnil aktivní kojení, aplikace MA snížila čas strávený čištěním mláďat. Stres v období laktace významně snížil dobu k přenesení všech mláďat do hnízda, a to pouze u matek (C), které v graviditě nebyly ovlivněné ani stresem, ani drogou. Porodní hmotnost mláďat i poporodní nárůst hmotnosti byl vyšší u kontrolních (C) mláďata než u MA a SA mláďata. MA a SA mláďata byla pomalejší ve Vzpřimovacím reflexu na podložce v porovnání s C mláďaty. U skupiny nestresovaných jedinců byl tento efekt nejdelší. Zatímco fyzikální stres měl vliv převážně na samice, mateřská separace ovlivnila nejvíce samce. V testu Negativní geotaxe měly MA samice významně horší výsledky než samice z ostatních skupin. Postnatálně stresovaní MA potomci se na hrazdičce udrželi déle než postnatálně nestresovaní MA-jedinci.

Závěr: Výsledky ukázaly, že kombinace perinatálního stresu a prenatální aplikace drogy může zapříčinit opožděný vývoj potomků. Nicméně zdá se, že rozhodujícím faktorem je právě prenatální vliv drogy a stresu. Postnatální stres, jako samostatný faktor, může naopak zvýšit zájem matky o své potomky. Avšak v kombinaci s dlouhodobou aplikací drogy (MA) či stresu (SA) v průběhu gravidity mateřské chování nezlepšuje.

Práce byla podpořena grantem GAUK 88315, 260277/SVV/2016 a PRVOUK P34

SYMPATHECTOMY PROLONGS SURVIVAL OF MELANOMA-BEARING MICE AND AFFECTS EXPRESSION OF TUMOR-RELATED GENES IN MELANOMA TISSUE

Horvathová L.¹, Tillinger A.¹, Padová A.^{1,2}, Mravec B.^{1,2}

¹*Institute of Experimental Endocrinology, Biomedical Research Center, Slovak Academy of Sciences, Dubravska cesta 9/5779, 845 05 Bratislava, Slovakia;* ²*Institute of Physiology, Faculty of Medicine, Comenius University, Sasinkova 2, 813 72 Bratislava, Slovakia*

Introduction: Sympathetic nerves may potentiate tumor growth, including melanoma. The aim of present study was to investigate if reduced sympathetic neurotransmission induced by chemical sympathectomy might influence melanoma growth and progression.

Methods: Sympathectomy was performed by single intraperitoneal injection of 6-hydroxydopamine (6-OHDA). Four groups of male C57BL/6J mice were used: 1/subcutaneously (s.c.) injected with B16-F10 melanoma cells euthanized 20 days after injection; 2/s.c. injected with melanoma cells left for survival; 3/sympathectomized mice injected with melanoma cells euthanized 20 days after tumor cells injection; 4/sympathectomized mice injected with melanoma cells left for survival. Melanoma development, mice survival, weight of the tumor mass, expression of genes related to sympathetic signaling, apoptosis, hypoxia, and angiogenesis in tumor tissue and activity of hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis were studied.

Results: Sympathectomy delayed tumor development and prolonged survival of mice. In mice 20 day after melanoma cells injection, 6-OHDA reduced weight of tumor tissue in which increased gene expression of tyrosine hydroxylase, neuropeptide Y, alpha1, beta1, and beta3 adrenergic receptors, glucocorticoid receptors, factors of apoptosis (Bcl-2 and caspase-3) and hypoxia (hypoxia inducible factor 1 alpha) were detected. Plasma corticosterone was in these mice elevated, too. Interestingly, in survival study weight of melanoma tissue was in 6-OHDA group increased.

Conclusions: Our data indicate that sympathetic nerves stimulate tumor growth already in early phases. However, chemical sympathectomy performed before tumor growth induction has only temporarily effect and sympathetic nerves recovery exerts adaptive response to previously reduced noradrenergic signaling what results in increased melanoma mass observed in our survival study. These contrainuitive findings indicate that interventions affecting sympathetic nervous system exert complex effect on tumor progression.

Supported by VEGA grant application No. 2/0028/16.

PODMIENUJE EXPOZÍCIA METAMFETAMÍNU V RÔZNYCH NEUROONTOGENETICKÝCH ŠTÁDIÁCH POTKANA JEHO AKTÍVNE VYHLÁDÁVANIE DROGY V DOSPELOSTI?

Hrebíčková I., Ševčíková M., Šlamberová R.

Ústav normální, patologické a klinické fyziologie, 3. lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Praha, Česká republika

Metamfetamín (MA) je najčastejšie užívanou drogou tehotných žien. Svojimi účinkami patrí medzi psychostimulanciá, ktorých expozícia vedie k zvýšenej sekrécii dopamínu, serotonínu a noradrenalínu. Tieto monoamíny majú dôležitú regulačnú úlohu vo vývine mozgu plodu, ovplyvňujú mezolimbickú dráhu odmeny, ktorá je aktivovaná v počiatočných štádiách vzniku drogovej závislosti.

Predmetom tejto štúdie bolo zistiť, či prenatálna/neonatálna expozícia MA ovplyvňuje aktívne vyhľadávanie drogy u dospelého potkana a ktorá z týchto expozícií má zásadnejší vplyv na rozvoj drogovej závislosti v dospelosti. Na simuláciu prenatálneho vývinu boli matky testovaných mláďat denne v prvej (gestačný deň, GD, 1-11) a druhej (GD 12-22) polovici gravidity subkutánne ovplyvnené MA (5 mg/ml/kg) alebo fyziologickým roztokom (SA). Ďalšej skupine matiek sme podávali drogu v rovnakej dávke počas skorej laktačnej periódy (postnatálny deň, PD, 1-11), kde boli mláďatá nepriamo exponované prostredníctvom materského mlieka, alebo sme subkutánne ovplyvnili priamo mláďatá. Test na podmienené vyhľadávanie drogy sa skladal z 3 fáz: pre-expozícia (zistenie prirodzenej preferencie komory); fáza navykania (8 dní – každý deň je zviera umiestnené na hodinu do jednej z dvoch komôr, v ktorých im je vždy podávaná tá istá látka, SA alebo MA v dávke 5 mg/ml/kg); test aktívneho vyhľadávania (zviera má z centrálnej komory prístup do ľubovoľnej komory, v ktorej dostávalo buď MA alebo SA).

Výsledky štúdie ukázali, že prenatálna expozícia MA nemá vplyv na rozvoj drogovej závislosti, na rozdiel od neonatálnej expozície, ktorá znižuje senzitivitu na ďalšiu aplikáciu drogy v dospelosti. Expozícia počas skorej laktačnej periódy vyvolala najvýraznejšie zmeny v počte vstupov a v čase strávenom v komorách, v ktorých bola potkanom podávaná droga. Výsledky naznačujú, že práve počas obdobia, kedy prebieha myelinizácia a synaptogenéza neurónov daných štruktúr, došlo pravdepodobne k najvýraznejšiemu neurotoxickému účinku drogy.

Grantová podpora: PRVOUK P34, GAUK 706216, 260277/SVV/2016

VPLYV β -GLUKÁNU A HUMÍNOVÝCH LÁTOK NA VYBRANÉ METABOLICKÉ PARAMETRE U BROJLEROVÝCH KURČIAT

Hreško Šamudovská A., Demeterová M., Bujňák L.

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Slovenská republika

Úvod: Z dôvodu zákazu používania antibiotík ako stimulátorov rastu vo výžive zvierat sa hľadajú látky, ktorých vplyv na zdravie a úžitkové vlastnosti zvierat bol rovnaký alebo dokonca lepší. Možnou alternatívou sú β -glukány a humínové látky. β -glukány sú polysacharidy s dlhým reťazcom, ktorých jedinou stavebnou jednotkou je β -glukóza. Humínové látky sú organické zlúčeniny vznikajúce v priebehu huminifikácie za obmedzeného prístupu vzduchu, ako výsledný produkt degradácie rastlinných a živočíšnych zvyškov.

Metodika: Do pokusu bolo zaradených 200 1-dňových kurčiat (Ross 308), ktoré boli rozdelené do štyroch skupín ($n = 50$). Do krmných zmesí všetkých pokusných skupín (B, BH3-6, BH1-6) bol pridaný purifikovaný β -glukán získaný z hlivy ustricovej (*Pleurotus ostreatus*) v množstve 0,02 g.kg⁻¹ krmnej zmesi do 2. týždňa a 0,04 g.kg⁻¹ krmnej zmesi od 3. týždňa pokusu. V skupine BH3-6 a BH1-6 boli na úkor pšenice pridané aj humínové látky (BH3-6: 5 g.kg⁻¹ krmnej zmesi od 3. týždňa pokusu; BH1-6: 3 g.kg⁻¹ krmnej zmesi do 2. týždňa a 5 g.kg⁻¹ krmnej zmesi od 3. týždňa pokusu). Hladiny ukazovateľov bielkovinového, energetického a minerálneho metabolizmu a enzymatického profilu v krvnom sére kurčiat na 35. deň pokusu boli stanovené spektrofotometricky komerčnými Bio-La testami. Získané výsledky boli zhodnotené štatisticky použitím jednocestnej ANOVY.

Výsledky: V skupine BH3-6 bola nameraná signifikantne nižšia koncentrácia celkových bielkovín ako v kontrolnej ($P < 0,05$) a ostatných pokusných skupinách (BH1-6 $P < 0,05$; B $P < 0,01$). Nižšia koncentrácia celkových bielkovín bola nameraná aj v skupine BH1-6, ale rozdiel oproti kontrolnej skupine nebol štatisticky významný. V skupinách B a BH3-6 bola nameraná nižšia aktivita ALP ako v kontrolnej skupine ($P < 0,05$). Ostatné ukazovatele intermediárneho metabolizmu neboli v porovnaní s kontrolnou skupinou štatisticky významne ovplyvnené, ale v skupine BH1-6 bola nameraná signifikantne vyššia koncentrácia albumínu ako v skupine B ($P < 0,01$) a BH3-6 ($P < 0,05$).

Záver: Kombinácia oboch sledovaných látok môže viesť k zníženiu hladiny celkových bielkovín a k zníženiu aktivity ALP v krvnom sére kurčiat (výraznejšie pri podávaní humínových látok od 3. týždňa pokusu). K významnému zníženiu aktivity ALP môže dôjsť aj pri podávaní samotného β -glukánu.

Práca bola podporovaná grantom No. 1/0663/15.

RETINOIDY A NOS POZITÍVNE NEURÓNY V PREFRONTÁLNEJ KÔRE DOSPELÉHO POTKANA

Hvizdošová N., Ihnátová L., Bona M., Lovásová K., Kluchová D.

Ústav anatómie, Lekárska fakulta, Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Košice, Slovenská republika

Úvod: Retinoidy, syntetické izoméry vitamínu A sa používajú ako lieky pre širokú škálu chorôb. Biologicky najaktívnejším retinoidom je kyselina all-trans retinová (ATRA). Je prítomná v mnohých vývojových procesoch a ako aktívny metabolit sprostredkováva vyvíjajúcemu embryu životne dôležité funkcie. ATRA je rovnako dôležitá pre embryonálny vývin, ako aj pre dospelého jedinca, ale v nadbytku môže byť v oboch prípadoch škodlivá. V našej práci sme sledovali zmeny v morfológickom obraze NOS pozitívnych neurónov po ovplyvnení ATRA u potomstva vo veku 90 dní. Zamerali sme sa na oblasť prefrontálnej mozgovej kôry (PFC), ktorá je nadradená druhotným častiam motorickej oblasti a má bohaté spojenie so štruktúrami limbického systému, čo sa výrazne prejavuje na formovaní správania sa organizmu.

Metodika: V experimente sme použili mozgy dospelých zvierat, ktoré boli prenatálne ovplyvnené podaním ATRA (n=9) v dávke 1 mg/kg hmotnosti na 14.-16. deň gravidity a mozgy kontrolných zvierat (n=7). Na vizualizáciu NOS pozitívnych neurónov sme použili histochemickú metódu NADPH-diaforázu.

Výsledky: V skupine kontrolných zvierat sme zistili prítomnosť multipolárnych neurónov s priemernou dĺžkou dendritov 75 μm a priemernou veľkosťou tiel neurónov 11 μm . V prípade zvierat, ktoré boli prenatálne ovplyvnené podaním ATRA bola dĺžka výbežkov a veľkosť tiel neurónov rovnaká ako v skupine kontrolných zvierat. Distribúcia neurónov bola v oboch prípadoch nerovnomerná s výskytom neurónov predovšetkým v III. – IV. vrstve kôry mozgovej.

Záver: V našej práci sme potvrdili utilizáciu neurotransmitera oxidu dusnatého v pozorovaných typoch neurónov, avšak v závere môžeme konštatovať, že ATRA podaná gravidným samiciam v dávke 1 mg/kg hmotnosti pravdepodobne neovplyvňuje priamo vývin CNS na histologickej úrovni u potomstva vo veku 90 dní.

Práca bola podporená grantom VEGA 2/0012/15, VVGS 2016-268

KYSELINA ALL - TRANS RETINOVÁ A JEJ VPLYV NA ÚZKOSTNÉ SPRÁVANIE MLÁĎAT

Ihnátová L.¹, Matéffy S.¹, Fecková B.², Bona M.¹, Hvizdošová N.¹, Kluchová D.¹

¹Ústav anatómie, Lekárska fakulta, Univerzita P. J. Šafárika; ²Ústav biologických a ekologických vied, Prírodovedecká fakulta, Univerzita P. J. Šafárika, Košice, Slovenská republika

Úvod: Kyselina all-trans retinová (ATRA) je jeden z metabolitov vitamínu A. Indukuje bunkovú diferenciáciu, vďaka čomu má nezastupiteľnú úlohu v procese embryogenézy a morfogénézy. Už dlhé roky sa využíva na liečebné účely v dermatológii a onkológii, je súčasťou mnohých multivitamínových prípravkov určených aj pre deti. Viaceré štúdie však naznačujú, že dlhodobé užívanie ATRA môže ovplyvniť funkcie mozgu, čo následne môže viesť k vzniku depresii, úzkostných stavov, siucidálneho správania, ale aj iných behaviorálnych porúch. Cieľom našej práce bolo zistiť aké zmeny úzkostného správania nastanú u mláďat dlhodobo užívajúcich ATRA, keďže ich vyvíjajúci sa nervový systém je citlivý na pôsobenie rôznych agensov.

Metodika: V experimente sme použili 3-týždňové samice potkanov kmeňa Wistar, ktorým po dobu 21 dní bola per os aplikovaná ATRA rozpustená v slnečnicovom oleji. Dávka ATRA bola 10 mg ATRA/kg hmotnosti zvierat'a. Po ukončení podávania ATRA boli zvieratá testované vo zvýšenom krížovom labyrinte a v teste preferencie svetla a tmy. Obidva testy sa štandardne využívajú na sledovanie prejavov úzkosti a strachu u myší a potkanov.

Výsledky: V obidvoch behaviorálnych testoch sme zaznamenali zníženie strachu a prejavov úzkosti u zvierat, ktoré počas 21 dní užívali ATRA. Prejavilo sa to výrazným predĺžením času, ktorý zvieratá trávili vo svetlých ramenách krížového labyrintu a v svetlom boxe počas testu preferencie svetla a tmy. O redukcii úzkostného správania u „ATRA“ zvierat svedčí aj zvýšenie ich pohybovej a exploračnej aktivity, ktoré sme zaregistrovali v obidvoch testoch.

Záver: Výsledky našej práce naznačujú, že dlhodobé užívanie ATRA v ranom veku môže viesť k behaviorálnym zmenám. V porovnaní s inými prácami sme však zaznamenali opačný efekt: ATRA potlačila úzkostné správanie mláďat potkanov.

Práca bola podporená grantom VVGS – 2016- 268.

NEUROPROTEKTÍVNY ÚČINOK VČASNEJ ISCHEMICKEJ TOLERANCIE NAVODENEJ VZDIALENÝM PREKONDICIONOVANÍM

Jachová J., Gottlieb M., Matiašová M., Némethová M., Bonová P.

Neurobiologický ústav, Slovenská akadémia vied, Košice, Slovenská republika

Úvod: Akútne cievne mozgové príhody sú druhou najčastejšou príčinou smrti. Vo väčšine prípadov dochádza k upchatiu cievy trombom alebo embolom, teda k zamedzeniu prísunu krvi do okolitého tkaniva, čo vedie k vzniku ischemického poškodenia mozgu. Tieto zhoršené podmienky iniciujú spustenie celej kaskády deštruktívnych biochemických procesov. V posledných troch desaťročiach bolo dokázané, že neuroprotektívny účinok eliminujúci negatívny dopad ischemie/reperfúzie nervového tkaniva je možné dosiahnuť navodením ischemickej tolerancie. Mechanizmus jej vzniku a účinku však ostáva naďalej neobjasnený.

Metodika: Pre navodenie ischemickej tolerancie sme použili model vzdialeného prekondicionovania spočívajúceho v opakovanej krátkodobej ischemii/reperfúzii zadnej končatiny, ktoré sme aplikovali 1 hodinu pred oklúziou strednej mozgovej tepny (fokálna ischemia). Rozsah ischemického ložiska sme vizualizovali použitím TTC farbenia, počet degenerujúcich neurónov v rámci ischemického jadra a penumbry Fluorojade B farbením a zmeny integrity hematoencefalickej bariéry na základe extravazácie farbiva Evansova modrá.

Výsledky: Výsledky našich experimentov potvrdili vysoký neuroprotektívny účinok vzdialeného prekondicionovania. Na základe TTC farbenia sme zistili, že navodenie ischemickej tolerancie spôsobilo zníženie rozsahu poškodenia až o 78% v porovnaní so skupinou zvierat s ischemickým zásahom bez predošlého kondicionovania. Tak isto sme v rámci ischemického jadra zaznamenali aj významné zníženie poškodenia hematoencefalickej bariéry a znížený počet Fluorojade B pozitívnych neurónov, a to až o 76%.

Záver: Výsledky našich experimentov poukazujú na to, že včasné kondicionovanie vedie k zníženiu rozsahu porušenia integrity hematoencefalickej bariéry a významne ovplyvňuje prežívanie neurónov, a to bez ohľadu na ich citlivosť na ischemické podmienky.

Práca bola podporená grantom No. VEGA 2/0012/15 a VEGA 2/0045/15.

DETEKCE MIKROEMBOLIZACÍ V A.CAROTIS COMMUNIS POMOCÍ DOPPLEROVSKÉ SONOGRAFIE BĚHEM POUŽITÍ VENO-ARTERIÁLNÍ EXTRAKORPORÁLNÍ MEMBRANOZNÍ OXYGENACE: PRASEČÍ MODEL

Janák D., Hála P., Popková M., Lacko S., Kudlička J., Bouček T., Mlček M., Kittnar O.
Fyziologický ústav I.LF UK, Praha, Česká republika

Úvod: Během využití invazivní veno-arteriální extrakorporální membranozní oxygenace (VA ECMO) hrozí vznik mikroembolizací ovlivňujících neurologický stav pacienta. V praxi se osvědčilo použití transkraniální dopplerovské sonografie (TCD) pro monitoraci a hodnocení průtoku mozkovými tepnami a detekci mikroembolizací (microembolic signals /MES/) v různých lokalitách oběhu. V našem experimentu využíváme neinvazivní detekci mikroembolizací pomocí TCD během různých průtokových režimů (VA ECMO) čerpadla.

Metodika: Experiment proveden na prasečím modelu (*scrofa domestica*), stáří (4-5 měsíců), v počtu 8 kusů. V celkové anestezii provedeno ischemické srdeční selhání, iniciálně dle echokardiografie EF LK 30%, následně pomocí 2MHz TCD přístroje (TCD Digi-Lite™), v oblasti pravé ACC provedeno 15 min měření přítomnosti microembolic signals (MES) odpovídajících mikroembolizacím bez přítomnosti VA ECMO (průtok čerpadla) 0 l/min a dále při zavedeném VA ECMO, při průtoku čerpadla 1 l/min, 2 l/min, 3 l/min a 4 l/min.

Výsledek: Po detekci a zhodnocení počtu embolizací a velikosti průtoku čerpadla VA ECMO vychází při srovnání průtoku 0 vs. 4 l/min statisticky významné riziko embolizací při 4 l/min ($p \leq 0,0001$), 0 vs. 3 l/min statisticky významné riziko embolizací při 3l/min ($p \leq 0,01$), 0 vs. 2l/min ($p \geq 0,05$), 0 vs. 1l/min ($p \geq 0,05$), 1 vs. 4 l/min statisticky významné riziko embolizací při 4l/min ($p \leq 0,01$), 2 vs. 3l/min ($p \geq 0,05$), 2 vs. 4l/min ($p \geq 0,05$) a 3 vs. 4 l/min ($p \geq 0,05$).

Závěr: Dle zhodnocených výsledků vyplývá, že vysoké průtoky VA ECMO čerpadla mají statisticky významnější riziko embolizací do CNS při srovnání s minimálními průtoky čerpadla . Při použití vysokých průtoků VA ECMO podpory oproti měření embolizací bez podpory se toto riziko ještě podstatně zvýrazní. Management velikosti průtoku čerpadla je důležitý nejen pro optimalizaci perfuzního tlaku organismu, ale je nutné ho posuzovat i v kontextu potenciálního rizika mikroembolizací do CNS během různých průtokových parametrů VA ECMO a zhoršování neurologického stavu u neurologicky deteriovaných pacientů.

EFEKT „TERAPIE TMOU“ NA ELEKTROFYZIOLOGII SRDCE U MLADÝCH LIDÍ

Jarkuliš V.¹, Vavřina Z.¹, Malůš M.², Vavříková M.¹, Kempný M.¹, Lubojacký J.¹, Konečný J.¹, Škrda D.¹, Švorc P.Jr.¹

¹Ústav fyziologie a patofyziologie, Lékařská fakulta; ²Katedra psychologie, Filozofická fakulta, Ostravská univerzita, Ostrava, Česká republika

Úvod. Cílem této studie bylo vyhodnotit efekt terapie tmou na EKG parametry mladých lidí. Terapie tmou je léčebná metoda založena na pobytu v úplné tmě za účelem zlepšení zdraví lidí žijících pod neustálým stresem. Kromě zlepšení psychického stavu by mohla také ovlivňovat vitální funkce včetně elektrofyziologie srdce.

Metodika. Hodnocení probíhalo u 14 studentů ve věku od 19 do 26 let, umístěných na 96 hodin do speciální místnosti s maximální tmou. Místnost splňovala podmínky pro pohodlný pobyt a byla umístěna na tichém místě. V této místnosti byla na pobytu vždy pouze jedna osoba. Účastníci během pobytu dostávali jídlo a pití dle potřeby a nepoužívali žádné zařízení, které by vydávalo světlo anebo ukazovalo aktuální čas. Měření probíhalo den před nástupem na pobyt, v den ukončení pobytu cca 30 minut po výstupu ze tmy a následně čtvrtý a sedmý den po pobytu. Byly hodnoceny PQ, QT, QTc intervaly a tepová frekvence z II. bipolárního končetinového svodu EKG.

Výsledky. Tepová frekvence byla signifikantně nižší v den výstupu, čtvrtý i sedmý den po výstupu. QT interval byl signifikantně delší v den výstupu. U zbylých intervalů byly změny nesignifikantní.

Závěr. 96 hodin terapie tmou mělo vliv na tepovou frekvenci ve smyslu jejího snížení. Tento efekt je žádoucí, jelikož vysoká tepová frekvence je rizikovým faktorem kardiovaskulárních onemocnění. Prodloužení QT intervalu je markerem pro vznik a vývoj možných komorových arytmií, nedošlo však k prodloužení QTc intervalu, což znamená, že terapie tmou signifikantně nemění možnou predispozici pro vznik a vývoj komorových arytmií.

Práce byla podpořena grantem No. SGS10/FF/2016-2017

TRANSPLANTÁCIE HEPATOCYTOV V EXPERIMENTE

Kalanin R.¹, Gajdzik T.¹, Hulík Š.¹, Farkašová Iannaccone S.², Ginelliová A.², Tomková Z.³, Petrášová D.⁴, Ali Taha V.⁵, Kaťuchová J.¹, Radoňak J.¹

¹I. chirurgická klinika LF UPJŠ a UNLP, Košice, ²Ústav súdneho lekárstva LF UPJŠ, Košice, ³Ústav lekárskej a klinickej biofyziky LF UPJŠ, Košice, ⁴Laboratórium výskumných biomodelov LF UPJŠ, Košice ⁵Katedra manažmentu, FM PU, Prešov, Slovenská republika

Úvod: Cieľom našej práce bolo dokázať, že transplantované hepatocyty (TxH) dokážu prežiť a nahradiť nedostatočnú funkciu pečene a tým poskytnúť významnú alternatívu k transplantácii pečene ktorá je výrazne obmedzovaná nedostatkom darcovských orgánov k transplantácii

Metodika: Do experimentu bolo zaradených 40 samcov potkanov rodu Sprague Dawley vo veku 10 až 12 týždňov a hmotnosťou od 250 do 500 gramov a boli náhodne rozdelené do piatich skupín s rovnakým počtom jedincov: I. zdravé potkany - kontrolná skupina; II. potkany po 2/3 resekcii pečene bez aplikácie hepatocytov; III. potkany po poškodení pečene Thioacetamidom (TAA) bez aplikácie hepatocytov; IV. potkany po 2/3 resekcii pečene s TxH; V. potkany po poškodení pečene TAA s TxH. V II. a IV. skupine sme vykonávali 2/3 resekcie pečene. Poškodenia pečene v III. a V. skupine sme vykonávali intraperitoneálnym podaním TAA v dávke 175 mg/kg. Pred operačným výkonom bola potkanom podaná anestézia v dávke 15 mg/kg Thiopentalu intraperitoneálne. Po operácii sme podávali i.m. analgetiká v dávke 5 mg/kg Tramadol hydrochloridu. Jedincom po aplikácii buniek hepatocytov bola denne podávaná imunosupresívna liečba Mycophenolate mofetil (Cellcept 23mg/kg). U všetkých skupín sme sledovali v krvnom sére laboratórne parametre (ALT, albumín, bilirubín) a zmeny hmotnosti počas experimentu. Laboratórne hodnoty sme zisťovali v 1., 7., 14. a 21.deň experimentu.

Výsledky: U jedincov, ktorým sme vykonali TxH už od 7. dňa experimentu pozorovali postupný pokles BIL a ALT a vzostup hodnôt ALB u zvierat v porovnaní s kontrolnými skupinami. Histopatologickou analýzou sme dokázali prítomnosť a viabilitu značených transplantovaných hepatocytov v skupinách liečených TxH oproti kontrolným skupinám, kde sme zaznamenali nekrózu tkaniva pečene.

Záver: V experimente sa nám podarilo biochemickou a histologickou analýzou vzoriek jednoznačne dokázať terapeutický efekt TxH u jedincov po inak ireverzibilnom poškodení pečene, ku ktorému došlo veľkou resekciou pečene, resp. podaním hepatotoxického TAA.

VPLYV METABOLICKÉHO A REMOTE ISCHEMICKÉHO PRECONDITIONINGU NA FUNKCIU SRDCOVÝCH MITOCHONDRIÍ

Kancirová I.¹, Jašová M.¹, Muráriková M.¹, Sumbalová Z.², Kucharská J.², Waczulíková I.³, Ferko M.¹

¹Ústav pre výskum srdca, Slovenská akadémia vied, Bratislava, ²Farmakobiochemické laboratórium III. internej kliniky Lekárskej fakulty Univerzity Komenského, Bratislava, ³Katedra jadrovej fyziky a biofyziky, Fakulta matematiky, fyziky a informatiky, Univerzita Komenského, Bratislava, Slovenská republika

Úvod: Endogénna ochrana myokardu voči ischemicko-reperfúznemu (I/R) poškodeniu bola popísaná nielen u remote ischemického preconditioningu (RPC), ale i u metabolického preconditioningu pozorovaného v experimentálnom modeli streptozotocínom-indukovaného diabetes mellitus (DM). Cieľom tejto štúdie bolo zistiť, aký je účinok ich kombinácie na funkciu mitochondrií myokardu s I/R poškodením.

Metodika: Potkany kmeňa Wistar boli rozdelené do 4 skupín: K, RPC, DM skupina a skupina s DM podrobená RPC (RPC+DM). RPC bol tvorený 3 sériami 5-min. končatinovej ischémie a reperfúzie. DM bol indukovaný streptozotocínom (i.p. 65mg/kg). Izolované srdcia potkanov všetkých skupín boli vystavené 30-min. globálnej ischémii a 40-min. reperfúzii podľa Langendorffa. Následne boli stanovené: respiračná aktivita mitochondrií, fluidita mitochondriovej membrány, ako aj obsah oxidovaných foriem koenzýmu Q (CoQ9-ox a CoQ10-ox).

Výsledky: U skupiny RPC+DM sme v dôsledku I/R poškodenia pozorovali najmenší pokles v rýchlosti respirácie v stave S3 v porovnaní so skupinami K, DM a RPC. DM, RPC a RPC+DM zabránili rigidizácii mitochondriovej membrány v dôsledku I/R poškodenia, avšak RPC+DM nedosiahol úroveň RPC. U skupín DM, RPC a RPC+DM sme pozorovali zvýšený obsah oxidovaných foriem koenzýmu Q po stabilizačnej fáze, avšak nie po ischemicko-reperfúznom poškodení.

Záver: Práca potvrdila zachovanie kardioprotektívneho účinku RPC a DM pri ich súčasnom pôsobení, pričom ich aditívny účinok bol potvrdený len na úrovni respiračnej aktivity srdcových mitochondrií.

Práca bola podporená grantami VEGA 2/0133/15, APVV 15-0119

ELEKTROKARDIOGRAFICKÉ VÝSLEDKY RESYNCHONIZAČNÍ TERAPIE

Kittnar O.¹, Riedlbauchová L.², Tomis J.², Janoušek J.³, Ložek M.³, Valeriánová A.¹, Hrachovina M.¹, Huptych M.⁴, Lenka Lhotská L.⁴

¹Fyziologický ústav I.LF UK; ²Kardiologická klinika 2.LF UK a FN Motol; ³Dětské kardiocentrum, FN v Motole; ⁴Katedra kybernetiky, FEL, ČVUT, Praha, Česká republika.

Úvod: Porušená koordinace kontrakcí mezi komorami nebo nekoordinovaná kontrakce komorové stěny ve vztahu k ostatním úsekům komory (tzv. dyssynchronie) přispívá k progresi srdečního selhání. Redukce nebo úplná eliminace dyssynchronie resynchronizační terapií (RT) může zpomalit případně zcela zastavit patologický remodelační proces, zlepšit příznaky srdečního selhání a indukovat reverzní remodelaci komorového myokardu. Cílem naší práce bylo identifikovat elektrokardiografické výsledky resynchronizační terapie.

Metodika: Do studie bylo zařazeno 11 pacientů se symptomatickým chronickým srdečním selháním (NYHA II – NYHA IV) a sinusovým rytmem. Elektrokardiografické parametry byly vyšetřeny mapovacím systémem BioSemi (123 unipolárních hrudních elektrod). Měřeny byly hodnoty nejdelšího naměřeného intervalu QRS (QRS), nejdelšího naměřeného aktivačního času (AT) a nejvyšší naměřené hodnoty na isointegrované mapě (IImax).

Výsledky: Průměrné hodnoty spontánního rytmu u studované skupiny pacientů [QRS 128,1±10,1 ms, AT 31,8±6,7 ms a IImax 461,6±35,4 mV.ms] se statisticky významně lišily od kontrolních hodnot [QRS 79,1±3,1 ms, AT 24,2±1,7 ms a IImax 145,1±85,7 mV.ms]. Z použitých postupů RT se nejvíce normálním hodnotám přiblížila dvoudutinová levokomorová stimulace [QRS 103,7±7,2 ms, AT 20,2±2,7 ms a IImax 182,1±51,1 mV.ms]. Třídutinová biventrikulární stimulace [QRS 114,3±7,9 ms, AT 22,4±4,9 ms a IImax 241,8±73,0 mV.ms] ani dvoudutinová pravokomorová stimulace [QRS 111,3±11,2 ms, AT 25,9±7,8 ms a IImax 326,4±63,3 mV.ms] tak dobrých výsledků nedosáhly, přestože i ony vykazovaly zlepšení oproti spontánní (nestimulované) aktivaci komor u vyšetřených osob.

Závěr: Závěrem lze konstatovat, že RT zlepšuje elektrokardiografické ukazatele synchronizace elektrické aktivity komor a přitom nejlepšího efektu dosahuje levokomorová stimulace komor.

HMYZÍ ADIPOKINETICKÝ HORMON OVLIVŇUJE PARALÝZU VYVOLANOU NEUROMUSKULÁRNÍM TOXINEM

Kodrík D., Shaik A.H., Martínková B., Žurovec M.

Entomologický ústav Biologického centra AVČR a Přírodovědecká fakulta Jihočeské univerzity, České Budějovice, Česká republika

Úvod: Parazitická vosička *Habrobracon hebetor* produkuje toxin, který eliminuje funkce hmyzího imunitního systému a vykazuje také neurotoxickou aktivitu. Ta se projevuje totální paralýzou, za kterou jsou zodpovědné proteiny, které presynapticky blokují glutaminergní synapse a způsobují tak ochrnutí svalové soustavy. Napadený hmyz se proti toxinu brání aktivací obranných reakcí, které jsou pod kontrolou adipokinetického hormonu (AKH). Jde o peptidický neurohormon, který mobilizuje anti-stresové reakce obnovující homeostázu organismu, a velmi pravděpodobně působí také jako neuromodulátor v CNS hmyzu.

Metodika: Problematika byla studována na ploštic *Pyrrhocoris apterus*, která byla ošetřena toxinem extrahovaným z jedových žláz vosičky *H. hebetor*, případně hormonem *Pyrap-AKH* ploštic (pGlu-Leu-Asn-Phe-Thr-Pro-Asn-Trp-NH₂). Hlavními markery, které charakterizovaly působení toxinu i hormonu, byly mortalita a paralýza pokusných ploštic, exprese genu pro AKH, hladina tohoto hormonu v CNS i hemolymfě a intenzita celkového metabolismu. V bakulovirovém expresním systému byl připraven rekombinantní protein, který vykazoval stejnou aktivitu jako přírodní toxin.

Výsledky: Aplikace toxinu vyvolala svalovou paralýzu v těle ploštic – dávka 0.1 ekv. jedové žlázy způsobila úplnou paralýzu u všech jedinců do 15 hodin po aplikaci. Avšak ko-aplikace toxinu s 10 pmol AKH tlumila projevy paralýzy: po 8 hodinách po ošetření došlo k více než trojnásobnému snížení počtu paralyzovaných jedinců. Toxin dále vyvolal v těle ploštic zvýšení exprese *Akh* genu, i množství vlastního hormonu v CNS i hemolymfě. Ošetření toxinem vyvolalo také snížení celkového metabolismu; toto snížení se s prodlužujícím časem po ošetření prohlubovalo. Připravený rekombinantní toxin byl plně aktivní a hodnoty paralýzy jím vyvolané byly srovnatelné s přírodním toxinem z jedových žláz vosičky.

Závěr: Aplikace neurotoxinu z jedových žláz vosičky *H. hebetor* vyvolává neuromuskulární paralýzu v těle ploštic *P. apterus*, důsledky paralýzy mohou být sníženy aplikací AKH. Mechanismus působení tohoto jevu není znám, nicméně díky neuromodulační aktivitě AKH v CNS hmyzu, nelze vyloučit interakce přímo v oblasti synapse.

Práce byla podpořena grantem GAČR 17-03253S (DK)

ROLE NITROLEBNÍ HYPERTENZE V ČASNÉM POŠKOZENÍ MOZKU PO SUBARACHNOIDÁLNÍM KRVÁCENÍ

Kolář M.¹, Nohejlová K.², Polách J.², Mareš J.², Páchl J.¹

¹*Klinika anesteziologie a resuscitace, 3. lékařská fakulta, Univerzita Karlova;* ²*Ústav normální, patologické a klinické fyziologie, 3. lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Praha, Česká republika*

Úvod: Příčinou časných poruch mozkové perfuze po subarachnoidálním krvácení (SAK) může být jak nitrolební hypertenze, tak vazokonstrikční efekt arteriální krve v subarachnoidálním prostoru. Cílem studie bylo zhodnocení vlivu nitrolební hypertenze na časné perfuzní změny mozkové kůry po SAK.

Metodika: Potkaní samci (220 – 260 g) byli rozděleni do 4 skupin: 1. skupina s navozeným subarachnoidálním krvácením (SAK), 2. kontrolní skupina, 3. skupina se SAK a dekompresní kraniektomií (SAK + DK), 4. kontrolní skupina s DK. Skupinám s DK byla před navozením SAK provedena bilaterální fronto-temporo-parietální kraniektomie + durotomie. Během pokusu byl monitorován arteriální krevní tlak, nitrolební tlak (ICP) a mozkový perfuzní tlak (CPP), perfuze mozku byla měřena metodou Laser Speckle Contrast Analysis. SAK bylo navozeno aplikací 250 ul neheparinizované autologní arteriální krve (skupina SAK a SAK + DK), kontrolním skupinám bylo podáno 250 ul isotonického roztoku (IR).

Výsledky: Aplikace krve i IR do prechiasmatické cisterny způsobila ve skupinách bez DK výraznou elevaci ICP, pokles CPP a pokles mozkové perfuze, u skupin s DK vedla aplikace k pouze mírnému vzestupu ICP a poklesu CPP. Ve skupině se SAK byla perfuze nejnižší v okamžiku aplikace krve, poté následoval pozvolný návrat k výchozím hodnotám. Ve skupině SAK + DK pokračoval pokles perfuze i po ukončení aplikace krve a perfuze dosáhla svého minima cca za 1 minutu po ukončení aplikace. Perfuze v této skupině byla signifikantně nižší ve srovnání jak se skupinou se SAK, tak s kontrolní skupinou s DK. U obou skupin s DK byl pozorován výrazný edém mozku s protruzí mozkové tkáně.

Závěr: Eliminace nitrolební hypertenze dekompresní kraniektomií nevedla ke zlepšení perfuze mozku v prvních 30 minutách po navození SAK. Dynamika změn mozkové perfuze v prvních minutách po SAK naznačuje uplatnění mechanismů nezávislých na vzestupu ICP na rozvoj časných perfuzních změn. Roli může hrát i samotná DK, u které byly popsány závažné nežádoucí účinky.

Grantová podpora: IGA NT 14426-3/2013, 260045/SVV/2014, CSM7/CRP/2014.

FUNKČNÉ DÔSLEDKY INTERAKCIE PĽÚCNEHO SURFAKTANTU S LIPOPOLYSACHARIDOM

Kolomazník M.¹, Žila I.², Košútová P.², Mokrá D.^{1,2}, Čalkovská A.^{1,2}

¹Martinské centrum pre biomedicínu, ²Ústav fyziológie, Jesseniova lekárska fakulta, Univerzita Komenského, Martin, Slovenská republika

Úvod: Pľúcny surfaktant je lipoproteínový komplex, ktorý tvorí tenkú vrstvu na alveolárnom rozhraní. Lipopolysacharid (LPS) ako hlavná súčasť vonkajšej membrány gram-negatívnych baktérií interferuje so surfaktantom a spôsobuje pokles jeho aktivity, čo sa prejaví zmenou funkčných vlastností respiračného systému. Cieľom štúdie bolo otestovať vplyv exogénneho surfaktantu na poškodenie pľúc vyvolané intratracheálnym podaním LPS.

Metodika: Poškodenie pľúc bolo vyvolané u umelo ventilovaných dospelých potkanov (kmeň Wistar) intratracheálnym podaním LPS (100 alebo 500 µg/kg; 2,2 ml/kg). Po vyvolaní poškodenia pľúc pomocou LPS 500 µg/kg bol liečeným zvieratám podaný exogénny surfaktant Curosurf® v dávke 50 mg fosfolipidov/kg hmotnosti tela a kontrolnej skupine fyziologický roztok. Po 5 hodinách ventilácie bol hodnotený edém pľúc, a hladiny vybraných markerov (IL-1b, MCP-1, ANGPT2, CASP3), surfaktantový proteín A (SP-A), oxidačné poškodenie lipidov v pľúcnom homogenáte a v bronchoalveolárnej lavážnej (BAL) tekutine, a distribúcia buniek v periférnej krvi.

Výsledky: Podanie vyššej dávky LPS do pľúc viedlo k zvýšenej tvorbe pľúcneho edému ($p < 0,01$), zvýšeniu hladín IL-1 β a ANGPT2 v homogenáte aj v BAL tekutine (IL-1 β $p < 0,01$; ANGPT2 $p < 0,05$), oxidačnému poškodeniu lipidov ($p < 0,05$) a bol naznačený vzostup SP-A ($p = 0,056$). LPS taktiež vyvolalo redistribúciu zápalových buniek medzi pľúcami a krvným obehom. Podanie exogénneho surfaktantu spôsobilo pokles hladiny ANGPT2 v BAL tekutine ($p < 0,05$ vs. LPS), a pokles IL-1 β , MCP-1 a SP-A v BAL tekutine, ktorý však nebol štatisticky významný ($p > 0,05$ vs. LPS). Terapia surfaktantom tiež zredukovala pľúcny edém ($p < 0,05$ vs. LPS).

Záver: Intratracheálne podanie LPS vedie k zmenám pripomínajúcim bakteriálny zápal, pričom podanie exogénneho surfaktantu bráni rozvoju týchto zmien.

Práca bola podporená grantom BioMed ITMS kód 26220220187, APVV-0075-15, VEGA 1/0469/16

EXTRACELULÁRNA DNA U PACIENTOV S ANKYLOZUJÚCOU SPONDYLITÍDOU A PSORIATRICKOU ARTRITÍDOU SA PO APLIKÁCIÍ BIOLOGICKEJ LIEČBY NEMENÍ

Konečná B.¹, Celec P.^{1,2,3}, Šteňová E.⁴, Vlková B.¹

¹Ústav molekulárnej biomedicíny, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava,

²Ústav patologickej fyziológie, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava,

³Katedra molekulárnej biológie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava,

⁴1.Interná klinika, Lekárska fakulta a Univerzitná Nemocnica, Univerzita Komenského, Bratislava, Slovenská republika

Úvod: Ankylozujúca spondylitída (AS) a psoriatická artritída (PA) sú autoimunitné choroby charakteristické tvorbou antinukleárných a anti-dsDNA protilátok. Zápal vedie k uvoľňovaniu DNA do mimobunkového priestoru. Biologická liečba zameraná na kľúčové prozápalové cytokíny veľmi efektívne zmierňuje príznaky chronických zápalových chorôb. Cieľom štúdie bolo analyzovať dynamiku extracelulárnej DNA v plazme pri biologickej protizápalovej liečbe.

Metodika: Vo vzorkách plazmy od pacientov s AS (n=10) a s PA (n=7) bola analyzovaná extracelulárna DNA pred nasadením biologickej protizápalovej liečby, 3 mesiace a 6 mesiacov po nasadení liečby spektrofluorometricky a pomocou kvantitatívnej PCR.

Výsledky: Napriek výraznému zlepšeniu klinických parametrov ani pri AS, ani pri PA neboli pozorované zmeny v koncentráciách extracelulárnej DNA. Analýza pôvodu DNA v plazme ukázala, že biologická liečba nemení ani extracelulárnu DNA jadrového, ani mitochondriálneho pôvodu.

Záver: Extracelulárna DNA sa pri nasadení biologickej liečby u pacientov s AS alebo PA nemení, nekoreluje teda ani s klinickým stavom pacientov. Vzhľadom na malý počet pacientov a heterogenitu pacientov nemožno vylúčiť, že extracelulárna DNA už bola ovplyvnená predchádzajúcou protizápalovou liečbou. Väčší súbor pacientov by mohol preukázať prípadný prognostický význam extracelulárnej DNA postulovaný a potvrdený pri biologickej liečbe reumatoidnej artritídy.

EXOGENNA SUPEROXID-DISMUTÁZA V LIEČBE EXPERIMENTÁLNEHO SYNDRÓMU ASPIRÁCIE MEKÓNIA SURFAKTANTOM

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

Ústav fyziológie a Martinské centrum pre biomedicínu (Biomed) Martin, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave, Slovenská Republika

Úvod: Produkcia voľných kyslíkových radikálov je jedným z dôležitých patomechanizmov v rozvoji syndrómu aspirácie mekónia (MAS). Oxidačný stres vyvoláva bronchokonstrikciu, poškodzuje zložky endogénneho aj exogénneho surfaktantu, deštruuje pneumocyty. Pridanie N-acetylcysteínu k surfaktantu prinieslo v liečbe experimentálneho MAS výrazné zlepšenie, a aj intratracheálne podanie superoxid-dismutázy (SOD) preukázalo určité protizápalové účinky; pôsobenie SOD v súčinnosti so surfaktantom však v liečbe MAS nie je známe. Chceli sme preto overiť hypotézu, že pridanie SOD ovplyvní priebeh surfaktantovej liečby MAS a prinesie zlepšenie.

Metodika: MAS sme indukovali mladým novozélandským bielym králikom s hmotnosťou $2,36 \pm 0,12$ kg intratracheálnou instiláciou mekónia. Jedna skupina bola ponechaná bez liečby (Mec; n=8), liečeným skupinám bol podaný exogénny surfaktant (Curosurf® – Surf; n=8) alebo surfaktant v kombinácii so SOD (Surf+SOD; n=8). Zvieratá boli 5 hodín ventilované FiO₂ 1,0 a post mortem boli v pľúcnom homogenáte stanovené IL-1 β , IL-6 a TBARS a v bronchoalveolárnej lavážnej tekutine (BALF) celkový a diferenciálny počet leukocytov.

Výsledky: Pridanie exogénnej SOD k surfaktantu viedlo k výraznému, avšak prechodnému zlepšeniu vo všetkých sledovaných ventilačných parametroch (PaO₂/FiO₂, OI, VEI, PaCO₂, AaG), v niektorých signifikantne aj v porovnaní so skupinou Surf. Produkcia IL po podaní SOD v porovnaní so surfaktantovou skupinou poklesla, napriek tomu sa celkový ani diferenciálny počet leukocytov v BALF medzi liečenými skupinami nelíšil.

Záver: Antioxidačná terapia SOD má v liečbe MAS po pridaní k surfaktantu vzhľadom na respiračné parametre výrazný účinok. Zdá sa však, že tento účinok je iba prechodný a SOD je v prostredí znečistenom mekóniom inaktivovaná. V prípade klinického využitia terapie SOD je preto potrebné podať SOD opakovane, prípadne spôsobom, ktorý by predchádzal jej inaktivácii.

Práca bola podporená grantmi: VEGA 1/0305/14, VEGA 1/0469/16, APVV-0435-11, APVV-15-0075, Biomed Martin ITMS 26220220187

INDUCTION OF CASPASE 3 IN MICE FIBROSARCOMA CELL LINE, BY TARAXACUM OFFICINALE EXTRACT

Korbášová M., Tomenendálová J.

*Department of Physiology, University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno,
Czech Republic*

Introduction: Taraxacum officinale (TO), known as dandelion, is a herb traditionally used as a folklore medicinal herb for example for its anti-inflammatory, choleric or diuretic activity. Studies, which describe its cytotoxicity in tumorous cells, have been published recently. Dandelion induces apoptosis in many types of tumors, however it doesn't change a viability of physiological cells. In this study we have investigated induction of caspase 3 as a marker of pro-apoptotic activity of TO extract (TOE) in mice fibrosarcoma cells, compared to physiological fibroblasts.

Methods: The cut TO roots were macerated in methanol for 48 hours, then in chloroform for 24 hours. The extracts from both liquids were reduced in vacuum rotary evaporator (VRE) and hydrophilic compounds were separated by dissolving in water and reducing in VRE. Non-tumorous mice fibroblasts 3T3 cell line and mice fibrosarcoma WEHI-13VAR (ATTC® CRL-2148™) were incubated with medium and TOE, which was 50, 100 and 250times diluted in medium (TOE 50x, 100x, 250x). We made a test for detection of caspase 3 by Colorimetric Caspase 3 Assay Kit (Sigma-Aldrich, Inc.). It is based on hydrolysis of the peptide substrate by caspase 3 (the effector caspase involved in process of apoptosis), resulting in the release of the p-nitroaniline, which has high absorbance at 405 nm.

Results: TOE 50x had the highest effect for the activation of caspase 3. Activity of caspase 3 were significantly higher in fibrosarcoma cells, compared to fibroblast cells ($P < 0,01$). Also the rise of activity of caspase 3 in fibrosarcoma incubated in TOE 50x was significant, compared to untreated cells ($P < 0,0001$). No difference was found between fibroblasts and untreated cells.

Conclusion: TOE induces activity of caspase 3 in mice fibrosarcoma cell line.

VPLYV INHIBÍTOROV FOSFODIESTERÁZ NA PĽÚCNE FUNKCIE PRI AKÚTNOM POŠKODENÍ PĽÚC INDUKOVANOM LAVÁŽOU

Košútová P., Mikolka P., Kolomazník M., Čalkovská A., Mokrý D.

Martinské centrum pre biomedicínu (BioMed, Ústav fyziológie, Jesseniova lekárska fakulta, Univerzita Komenského, Martin, Slovenská republika

Úvod: Akútne poškodenie pľúc (ALI) je charakterizované poruchou alveolo-kapilárnej membrány s prenikaním neutrofilov a ostatných zápalových buniek do pľúc, kde uvoľňujú zápalové a cytotoxické mediátory, poškadzujú syntézu a metabolizmus surfaktantu. Cieľom štúdie bolo vyhodnotiť, či systémové podanie rôznych inhibítorov fosfodiesteráz môže pozitívne ovplyvniť pľúcne funkcie experimentálnych zvierat s ALI indukovaným lavážou.

Metodika: Model ALI bol u dospelých králikov vyvolaný opakovanými lavážami pľúc fyziologickým roztokom (30 ml/kg, 9±3 krát), kým sme nedosiahli hodnotu PaO₂ <26,7 kPa pri ventilácii 100% kyslíkom. Následne boli zvieratá rozdelené do 5 skupín: zdravé kontroly bez ALI (Kontrola), neliečená skupina s ALI (ALI), zvieratá s ALI a liečbou PDE inhibítormi (1 mg/kg i.v.): neselektívnym PDE inhibítorom aminofylínom (ALI+AMINO), selektívnym PDE-3 inhibítorom olprinonom (ALI+OLP) alebo selektívnym PDE-5 inhibítorom sildenafilom (ALI+SILD). Zvieratá boli ventilované kyslíkom počas nasledujúcich 4 hodín, počas ktorých boli v pravidelných intervaloch merané ventilačné tlaky, krvné plyny, indexy výmeny plynov a celkový a diferenciálny počet leukocytov v krvi. Na konci experimentu sme z pomeru mokrej a suchej hmotnosti tkaniva stanovili stupeň pľúcneho edému a v bronchoalveolárnej lavážnej (BAL) tekutine sme určili celkový a diferenciálny počet buniek. Výsledky boli štatisticky vyhodnotené one-way ANOVA testom.

Výsledky: V skupine ALI došlo k signifikantnému nárastu celkového počtu buniek a neutrofilov v BAL tekutine a zvýšenej tvorbe pľúcneho edému. V skupine ALI+AMINO a ALI+SILD sme pozorovali signifikantné zlepšenie pľúcnych funkcií už po hodine terapie a v skupine ALI+OLP až po 2 hodinách terapie. Signifikantné zlepšenie výmeny krvných plynov sme pozorovali v skupine ALI+SILD už po hodine terapie, v skupinách ALI+AMINO a ALI+OLP až po 3 hodinách terapie. Avšak ani v jednej z liečených skupín sme nezaznamenali signifikantný pokles tvorby pľúcneho edému v porovnaní s ALI skupinou.

Záver: Liečba PDE inhibítormi mala pozitívny účinok na pľúcne funkcie a krvné plyny a viedla k poklesu celkového počtu buniek v BALF.

Práca bola podporená projektami APVV-0435-11, APVV-15-0075, VEGA 1/0305/14, BioMed (ITMS 26220220187).

SLINA AKO DIAGNOSTICKÁ TEKUTINA PRI MODELI AKÚTNEHO ZLYHANIA OBLIČIEK

Kovalčíková A.¹, Gyurászová M.¹, Bábíčková J.¹, Tóthová Ľ.^{1,2}, Celec P.^{1,3,4}

¹Ústav molekulárnej biomedicíny; Lekárska fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava; ²Fyziologický ústav, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava; ³Ústav patologickej fyziológie, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava, ⁴Katedra molekulárnej biológie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava, Slovenská republika

Úvod: Stanovenie koncentrácií plazmatického kreatinínu a močoviny sú najčastejšie používané markery na hodnotenie funkcie obličiek a diagnostiku ich poškodení. Ich plazmatická koncentrácia koreluje s funkciou obličiek. V posledných rokoch stúpa záujem o slinu ako biologickú tekutinu. Pomerne vysoká inter-individuálna a intra-individuálna variabilita zatiaľ bráni klinickému využitiu slín za týmto účelom. Identifikácia možných zdrojov variability pomocou experimentov môže pomôcť. Cieľom našej práce bolo meranie salivárnej koncentrácie kreatinínu, močoviny a markerov oxidačného stresu.

Metodika: Samce (n=20) a samice (n=20) kmeňa 129SV4 boli náhodne rozdelené do dvoch skupín. Prvá skupina podstúpila bilaterálnu nefrektómiu. Druhá skupina podstúpila sham operáciu a slúžila ako kontrola. Dvadsaťštyri hodín po operácii bol zvieratám intraperitoneálne podaný pilokarpín na indukciu salivácie. Krv bola odobratá retroorbitálne. Kreatinín, močovina v plazme aj v sline boli merané pomocou komerčne dostupných kitov. Markery oxidačného stresu boli merané pomocou spektrofotometrických metód. Na štatistickú analýzu bola použitá dvojfaktorová ANOVA a Bonferroni pos-hoc t-testy.

Výsledky: U myší, ktoré podstúpili bilaterálnu nefrektómiu sme v porovnaní so sham kontrolami pozorovali signifikantne vyššie koncentrácie kreatinínu a močoviny v plazme aj v slinách. Podobne, plazmatické koncentrácie AGEs boli v porovnaní so sham kontrolami signifikantne vyššie u myší, ktoré podstúpili bilaterálnu nefrektómiu. Medzi skupinami sme nenašli signifikantné rozdiely v salivárnej koncentrácii AGEs. Taktiež sme medzi skupinami nepozorovali žiadne signifikantné rozdiely v koncentrácii TBARS v plazme a v slinách.

Záver: Naše predbežné výsledky poukazujú na to, že salivárny kreatinín a močovina by mohli slúžiť ako markery na hodnotenie obličkových funkcií. Slina má potenciál byť neinvazívnou náhradou odberov krvi.

Táto práca bola podporená grantom Univerzity Komenského UK56/2016.

METHYLPREDNISOLON SNIŽUJE NITROLEBNÍ TLAK U KRYS S INDUKOVANÝM CELULÁRNÍM EDÉMEM

Kozler P., Marešová D., Pokorný J.

Fyziologický ústav I.LF UK Praha, Česká republika

Úvod: Nitrolební hypertenze ohrožuje život jedince kompresí životně důležitých center vznikem konusů, převažuje-li ložiskový charakter zvětšení nitrolebního objemu nebo smrtí mozku v důsledku ztráty perfuzního tlaku mozku při difuzních procesech. Jedním z difuzních procesů, který vede k nitrolební hypertenzi je edém mozku. V práci představujeme možnost neuroprotektce – snížení nitrolebního tlaku v experimentálním modelu celulárního typu edému mozku methylprednisolonem (MP).

Metodika: Pro studium změn nitrolebního tlaku jsme použili experimentální model intoxikace vodou, která indukuje celulární typ edému mozku. Destilovanou vodu v celkovém množství, které odpovídalo 20% hmotnosti zvířete jsme aplikovali intraperitoneálně (i.p.) ve třech dílčích dávkách v průběhu 24 hodin a s každou dílčí dávkou jsme i.p. podali třetinu celkové dávky desmopresinu, který má antidiuretický efekt (OCTOSTIM®, Ferring, 0,032 µg/kg). V souboru bylo 8 zdravých krys (kontrolní skupina), osm krys intoxikovaných vodou a osm krys, u kterých byl zároveň s destilovanou vodou a desmopresinem podáván i.p. MP (Solu-Medrol®, Pfizer, 100mg/1kg váhy). Nitrolební tlak jsme měřili u krys v celkové inhalační anestezii (isoflurane 2%, Florante®, AbbVie Ltd.) po dobu 60 minut pomocí fiberoptického systému (Opsens Medical, Canada) s intraparenchymovým mikrosensorem zavedeným 3mm před bregma a 3mm vpravo od střední čáry z bodového návrtu.

Výsledky: Průměrné hodnoty nitrolebního tlaku byly u kontrolní skupiny 4,6 mmHg, (SD ±15,2), u skupiny s indukovaným edémem 12,9 mmHg, (±SD 2,1), u skupiny s edémem + MP 5,5 mmHg, (±SD 19,1). Statisticky významný rozdíl na hladině významnosti $p < 0,01$ byl mezi skupinami kontrolní a s MP oproti skupině s edémem.

Závěr: Existenci celulárního typu edému mozku po intoxikaci vodou jsme prokázali v předchozích studiích (vyšší obsah vody stanovený metodou poměru suchá/mokrý váha, histologický obraz intracelulární distribuce intravitálního barviva a hypodenzita na CT). Neuroprotektivní efekt MP jsme dříve prokázali v histologické studii. Tato studie přinesla důkaz, že MP snižuje nitrolební tlak u krys s indukovaným celulárním edémem.

Podpořeno grantem P – 34/LF 1/7

KAUZÁLNE VZŤAHY MEDZI ZÁKLADNÝMI KARDIOVASKULÁRNymi PARAMETRAMI

Krohová J.^{1,2}, Czippelová B.¹, Turianiková Z.¹, Lazarová Z.¹, Tonhajzerová I.¹, Javorka M.¹

¹Ústav fyziológie a Martinské centrum pre biomedicínu (BioMed Martin), Jesseniova lekárska fakulta UK, Martin, Slovenská republika, ²Katedra kybernetiky a biomedicínskeho inžinýrství, FEI, VŠB – Technická univerzita Ostrava, Ostrava-Poruba, Česká republika

Úvod: Na hodnotenie autonómnej nervovej regulácie kardiovaskulárneho systému sa najčastejšie používa hodnotenie spontánnych oscilácií (variability) základných kardiovaskulárnych parametrov – frekvencie srdca (reprezentovanej RR intervalmi), systolického a diastolického tlaku krvi (STK, DTK). Tieto parametre sú vzájomne prepojené zložitými vzťahmi a iba málo sa vie o vzájomných vzťahoch spontánnych oscilácií RR intervalov, STK a DTK v podmienkach intaktného regulačného systému. Hlavným cieľom tejto štúdie bolo teda kvantifikovať silu vzájomných vzťahov medzi základnými kardiovaskulárnymi parametrami pomocou kauzálnej analýzy v informačnej oblasti počas pokoja a pri 2 rôznych typoch záťaže (ortostatický test, mentálna záťaž).

Metodika: 61 zdravým dobrovoľníkom (37 žien a 24 mužov vo veku $17,5 \pm 2,4$ r.) sme kontinuálne pri každom údere srdca neinvazívnym spôsobom merali tlak krvi pomocou volume-clamp metódy (Finometer Pro, FMS) a R–R intervaly pomocou EKG (CardioFax ECG-9620, NihonKohden). Silu vzájomných vzťahov sme analyzovali pomocou bivariátnej (miera užitočnosti prvého signálu v predpovedaní cieľového signálu) a trivariátnej analýzy (miera užitočnosti prvého signálu v predpovedaní cieľového signálu, za predpokladu súčasného poznania tretieho signálu).

Výsledky: Pomocou bivariátnej analýzy sme zistili, že najdôležitejšie spojenie medzi STK, DTK a RR zahŕňa vplyv RR oscilácií na STK a vplyv RR na variabilitu DTK. Zároveň najdominantnejší bol vplyv DTK na STK. Trivariátna analýza potvrdila výsledky bivariátnej, avšak ukázala, že vplyv RR na STK je len nepriamy, čo znamená, že vplyv zmien RR intervalov na veľkosť STK je sprostredkovaný nepriamo prostredníctvom DTK oscilácie.

Záver: Analýza v informačnej oblasti umožňuje hodnotiť mieru vzájomného prepojenia medzi základnými kardiovaskulárnymi parametrami. Aplikáciou trivariátneho prístupu je možné odlišiť priame od nepriamych prepojení a v pokoji dominovala sekvencia RR→DTK→STK.

Práca bola podporená grantom APVV-0235-12, VEGA 1/0087/14, VEGA 1/0202/16 a ITMS projektom "BioMed Martin" no. 26220220187.

INZULÍNOM REGULOVANÁ AMINOPEPTIDÁZA (IRAP) A METABOLIZMUS TUKOVÉHO TKANIVA OBÉZNYCH ZUCKER POTKANOV

Kršková K.¹, Balážová L.¹, Slamková M.¹, Lóry V.¹, Olszanecki R.², Suski M.², Zorad S.¹

¹Ústav experimentálnej endokrinológie, Biomedicínske centrum, Slovenská akadémia vied, Bratislava, Slovenská republika; ²Chair of Pharmacology, Jagiellonian University Medical College, 31531, Krakow, Poľsko

Úvod: Inzulínom regulovaná aminopeptidáza (IRAP, EC 3.4.11.3.) bola identifikovaná ako špecifické vysoko afinitné väzobné miesto pre angiotenzín IV (Ang IV), teda AT4 receptor, a je exprimovaná v rôznych typoch buniek vrátane tukového tkaniva. IRAP je v adipocytoch lokalizovaná v špecifických vezikulách a môže viacerými mechanizmami ovplyvňovať inzulínom stimulovaný transport glukózy do buniek. Cieľom našej práce bolo sledovať podávanie inhibítora IRAP obéznym Zucker potkanom a skúmať jeho vplyv na lipidový a glukózový metabolizmus tukového tkaniva.

Metodika: V štúdiu boli použité obézne potkany kmeňa Zucker, genetický model obezity a metabolického syndrómu, ktorým bol podávaný inhibítor IRAP – HFI419 (MerckMillipore, Nemecko) v dávke 29µg/100g/deň pomocou osmotických minipúmp. Utilizácia glukózy bola sledovaná intraperitoneálnym glukózovým tolerančným testom (ipGTT) a meraná v krvi z chvosta potkanov tesne pred a následne po 30, 60, 90 a 120 min po podaní glukózy (2g/kg telesnej váhy). Sérové hladiny hormónov boli stanovené komerčnými ELISA súpravami. V epididymálnom tukovom tkanive bola génová expresia stanovená kvantitatívnou PCR v reálnom čase a expresia proteínov meraná metódou Western blot.

Výsledky: Podávanie HFI419 nemalo významný vplyv na sérové hladiny inzulínu, glukózy ani na lipidový profil potkanov. Napriek tomu bola štatisticky významne zlepšená utilizácia glukózy počas ipGTT u potkanov po podávaní HFI419. V epididymálnom tukovom tkanive mRNA markerov inzulínovej citlivosti, zápalu a oxidačného stresu nebola podávaním HFI419 ovplyvnená. Zistili sme však významné zvýšenie fosforylácie proteínu AS160 (Akt substrát 160kDa), čo poukazuje na aktiváciu postreceptorovej signálnej kaskády inzulínového receptora.

Záver: Inhibícia aminopeptidázovej aktivity IRAP u obéznych potkanov kmeňa Zucker mala pozitívny vplyv na utilizáciu glukózy ako aj na transdukciu signálu inzulínového receptora v tukovom tkanive, čo naznačuje, že IRAP zohráva dôležitú úlohu v regulácii transportu glukózy do buniek.

Práca bola podporená grantami VEGA 2/0174/14 a APVV-15-0229.

EFFECT OF CAPSAICIN AND DIETHYLNITROSAMINE ON HSP 70 ACTIVITY IN LIVER IN CD-1 MICE

Kuchařová V., Tomenendálová J., Daněk O., Doubek J.

Department of Physiology, University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno, Czech Republic

Introduction: The most common type of primary liver cancer is the hepatocellular carcinoma that can be experimentally induced by nitrosamines such as diethylnitrosamine (DEN). Capsaicin (CAP), alkaloid produced by plants belonging to the genus *Capsicum*, has been widely studied for its carcinogenic and anticarcinogenic potential. The aim of this study was to assess the effect of CAP in combination with DEN on HSP 70 activity in liver in mice.

Material and methods: A total of 51 female CD-1 mice were randomly divided into five groups. The experiment started after two weeks of acclimatization and was conducted according to the Czech animal welfare protection legal guidelines. The experimental design is shown in Fig. 1.

Group	Week of experiment								
	1	2	3	5	7	9	11	13	
Contr. n=10			1% ethanol	1% ethanol	1% ethanol	1% ethanol	1% ethanol	1% ethanol	Euthanasia
CAP n=10			CAP 1,5mg/kg	CAP 1,5mg/kg	CAP 0,75kg/kg	CAP 0,75kg/kg	CAP 0,75kg/kg	CAP 0,75kg/kg	
CAP-DEN n=10	CAP 1,5mg/kg	DEN 25mg/kg	0,9% NaCl	0,9% NaCl	0,9% NaCl	0,9% NaCl	0,9% NaCl	0,9% NaCl	
DEN-CAP n=10		DEN 25mg/kg	CAP 1,5mg/kg	CAP 1,5mg/kg	CAP 0,75kg/kg	CAP 0,75kg/kg	CAP 0,75kg/kg	CAP 0,75kg/kg	
DEN n=10		DEN 25mg/kg	0,9% NaCl	0,9% NaCl	0,9% NaCl	0,9% NaCl	0,9% NaCl	0,9% NaCl	

Fig. 1: Experimental design; Contr. = control group, CAP was dissolved in 1% ethanol solution, DEN was dissolved in 0,9% NaCl solution

At the end of the experiment the mice were sacrificed, body and liver weight was assessed and HSP 70 activity in liver homogenate was determined using ELISA kit (Abcam, UK).

Results: No significant effect of DEN and/or CAP on liver HSP 70 activity was observed. Negative correlation between the liver to body weight ratio and the HSP 70 activity in liver homogenate was statistically significant.

Conclusion: By determining the HSP 70 activity in liver, this study showed neither carcinogenic nor anticarcinogenic effect of DEN and/or CAP in CD-1 mice.

This work was supported by grant IGA VFU Brno 114/2016/FVL.

TRANSFEKCIA EXCITABILNÝCH BUNIEK FOTOKONVERTIBILNÝM PROTEÍNOM MITO-KIKUME GR1

Kureková S.¹, Zahradník I.¹, Cagalinec M.^{1,2}

¹Ústav molekulárnej fyziológie a genetiky, Centrum biovied, Slovenská akadémia vied, Bratislava, Slovenská republika, ²Oddelenie Farmakológie, Inštitút biomedicíny a translačnej medicíny, Univerzita v Tartu, Estónsko

Úvod: Spájanie a delenie mitochondrií zjednocuje mitochondriálny priestor a zabezpečuje zachovanie mitochondriálnej dedičnosti a mitochondriálnych funkcií v bunke. Užitočným nástrojom na sledovanie mitochondriálnej dynamiky je fluorescenčný proteín Kikume GR1, ktorý je možné pomocou molekulárno-genetických metód exprimovať špecificky v mitochondriách a pomocou UV svetla fotokonvertovať vo zvolenom okamihu zo zelenej na červenú fluorescenciu. S cieľom porovnať mitochondriálnu dynamiku sme aplikovali lipofektamínovú transfekčnú metódu na izolované neuróny a kardiomyocyty.

Metodika: Genetický marker Mito-KikGR1 sme transfekovali lipofektamínom 2000 podľa optimalizovaného protokolu do kultivovaných kortikálnych neurónov izolovaných z 1-2 dňových neonatálnych potkanov kmeňa Wistar. Analogický postup transfekcie sme zvolili aj pre kardiomyocyty, ktoré sme izolovali z mladých, 150g potkaních samcov kmeňa Wistar.

Výsledky: Zistili sme, že aplikácia optimalizovaného protokolu poskytuje spoľahlivé značenie mitochondrií v kultivovaných neurónoch. Po 3 dňoch kultivácie sme prostredníctvom fluorescenčnej mikroskopie pozorovali fluorescenciu mitochondrií pri 512 - 542 nm, ktorá po krátkodobom ožiarení pozorovanej bunky ultrafialovým svetlom (350 ± 25 nm) nevratne konvertovala emisiu do oblasti 565 – 605 nm. Transfekcia kardiomyocytov rovnakým protokolom nebola úspešná, keďže sme nepozorovali žiadnu zelenú fluorescenciu buniek. Zvýšenie koncentrácie lipofektamínu v transfekčnej zmesi bolo pre kardiomyocyty v kultúre toxické.

Záver: Kardiomyocyty dospelých samcov potkanov nie je možné transfekovať lipofekciou v experimentálnych podmienkach vyhovujúcich pre transfekciu neurónov. Alternatívnou metódou by mohla byť transfekcia pomocou adeno-asociovaného vírusového vektora.

Práca je podporovaná grantami SASPRO 0063/01/02, VEGA 2/0169/16 a APVV-15-0302

HYPOXICKÝ VS. ISCHEMICKÝ PORCINNÍ MODEL AKUTNÍHO SRDEČNÍHO SELHÁNÍ

Lacko S.¹, Mlček M.¹, Hála P.², Popková M.¹, Janák D.¹, Hrachovina V.¹, Ošťádal P.², Kittnar O.¹

¹Fyziologický ústav, 1. lékařská fakulta, Univerzita Karlova; ²Kardiologické oddělení, Nemocnice na Homolce, Praha, Česká republika

Úvod: Nárůst v oblasti experimentálního výzkumu zařízení pro podporu mimotělního oběhu (ECMO) vyžaduje další vývoj dobře ovladatelných a reprodukovatelných modelů akutního srdečního selhání. Byly zkoumány dva modely: hypoxický s kontinuální perfuzí řečiště levé koronární tepny hypoxickou (deoxygenovanou) krví a ischemický s proximálním uzávěrem levé koronární tepny s kontrolovanou hypoperfuzí řečiště za uzávěrem. Cílem bylo těžké, stabilní selhání srdeční pumpy definované změnami v hemodynamických parametrech jako pokles srdečního výdeje aspoň o 50%, pokles saturace smíšené venózní krve pod 60%, pokles průtoku karotickými tepnami aspoň o 50%, ejekční frakce levé komory pod 20%, zhoršení regionální perfúze.

Metodika: Hypoxický model. U velkého biomodelu (prase domácí) v celkové intravenózní anestézii bylo indukováno srdeční selhání perfuzí hypoxickou (deoxygenovanou) krví přes katétr umístěný do ústí levé koronární tepny. Perfúze byla nastavena na 250 ml/min, s cílem vyloučit přítok vlastní arteriální krve. V případě ischemického modelu bylo selhání indukováno proximálním uzavřením jedné z hlavních větví levé koronární tepny balónkovým katétre s kontrolovanou hypoperfuzí řečiště za uzávěrem hypoxickou krví. Perfúze byla postupně snižována z hodnoty 80 ml/min dokud nebylo dosaženo požadovaného stupně selhání.

Výsledky: U hypoxického modelu nenastává ve většině případů dostatečný pokles srdečních funkcí, a to i v případě perfúze krví se saturací hemoglobinu 50 %. U ischemického modelu dochází ve většině případů po jedné hodině k těžkému srdečnímu selhání, ale je individuálně variabilní, která z hlavních větví je pro rozvoj selhání účinnější. Dalším pozorováním je, že rychlá reperfúze vede k těžkým dysrytmiím a k ventrikulární fibrilaci vždy, ať už bylo, nebo nebylo dosaženo selhání srdce.

Závěr: Usuzujeme, že zdravé srdce v klidu je při zachovalém koronárním průtoku schopno extrahovat dostatečné množství kyslíku i z významně desaturované krve. Tedy že pro rozvoj selhání je nezbytná ischemie s hypoxií. Jiná je situace za podmínek globální (celotělové) hypoxie, která vede k rozvoji těžkého selhání, patrně účinkem produktů hypoxického metabolismu. Ischemický model nabízí patofyziologicky věrný, technicky jednoduchý způsob navození srdečního selhání s minimální mortalitou. Při pomalé progresivní ischemizaci nenastávají epizody fibrilace komor, která pravidelně provází úplné koronární uzávěry a významně zvyšuje mortalitu. Individuální rozdíly v reakci na uzávěr jednotlivých větví a různé hodnoty perfúze potřebné k navození selhání jsou pravděpodobně dány variabilitou anatomie koronárního řečiště.

Práce byla podpořena grantem GA UK č.662214 a SVV 260255/2016.

ÚČINKY AGONISTU (NTI) A ANTAGONISTU (SNC80) DELTA OPIOIDNÝCH RECEPTOROV NA EXCITABILITU HIPOKAMPÁLNYCH NEURÓNŮV NIE SÚ KOMPLEMENTÁRNE

Lapínová L.¹, Dremencov E.^{1,2}, Lacinová Ľ.¹

¹Slovenská akadémia vied, Centrum biovied, Oddelenie bunkovej fyziológie a genetiky, Bratislava, Slovenská republika; ²Slovenská akadémia vied, Biomedicínske centrum, Ústav experimentálnej endokrinológie, Bratislava, Slovenská republika

Úvod: SNC80 je široko využívaný nepeptidický agonista δ -opioidných receptorov (DOR). V animálnych modeloch podanie SNC80 zhoršuje schopnosť učiť sa, ale zároveň je potenciálnym cieľom pre liečbu depresie. Antagonista DOR naltrindol (NTI) efekt agonistov, akým je aj SNC80, blokuje. Učenie aj depresia úzko súvisia s funkciou hipokampu. V našej štúdii porovnáваме akútne efekty naltrindolu a SNC80 na excitabilitu pyramidálnych neurónov potkana v primárnej kultúre.

Metodika: Hipokampálne neuróny boli izolované z novorodených potkanov kmeňa Wistar. Akčné potenciály (AP) a iónové prúdy boli merané v konfigurácii „z celej bunky“ metódou „patch-clamp“ s použitím zosilňovača HEKA EPC-10. SNC80 a/alebo naltrindol (100 nM, 1 μ M, 10 μ M a 100 μ M) boli aplikované do tesnej blízkosti meranej bunky perfúznym systémom.

Výsledky: SNC80 aj naltrindol inhibovali generovanie depolarizáciou evokovaných AP, ale schopnosť SNC80 inhibovať generovanie AP klesala s rastúcou koncentráciou, zatiaľ čo pri naltrindole rástla. Schopnosť inhibovať spontánnu aktivitu neurónov rástla s rastúcou koncentráciou pri oboch látkach v intervale 100 nM až 10 μ M, potom klesala. Obe látky zhodne inhibovali sodíkové a vápnikové prúdy. SNC80 potencoval A-typ draslíkových prúdov, kým naltrindol ho neovplyvňoval. Pomaly sa aktivujúce draslíkové prúdy neboli významne ovplyvnené ani jednou zo skúmaných látok.

Záver: Naše výsledky naznačujú, že na akútnych účinkoch SNC80 a naltrindolu sa okrem od DOR závislých dráh zúčastňujú aj ďalšie mechanizmy, ktoré regulujú napätovo závislé iónové kanály.

Práca bola podporená grantom APVV-15-0388.

EXTRACELULÁRNA DNA A DEOXYRIBONUKLEÁZA V ANIMÁLNO M ODEL I SEPSY

Lauková L.¹, Konečná B.¹, Bábíčková J.¹, Wagnerová A.¹, Melišková V.¹, Vlková B.¹, Celec P.^{1,2,3}

¹Ústav molekulárnej biomedicíny, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava,

²Ústav patologickej fyziológie, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava,

³Katedra molekulárnej biológie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava, Slovenská republika

Úvod: Sepsa predstavuje život ohrozujúci stav spojený s prítomnosťou baktérií, ktoré aktivujú leukocyty, prvú obrannú líniu imunitnej odpovede. Po aktivácii leukocytov dochádza k procesu ETózy. ETóza je dej, pri ktorom dochádza k uvoľneniu DNA z jadra mimo bunku, kde sa z nej tvorí sieť DNA a proteínov, do ktorej môžu byť baktérie zachytávané. a tým k uvoľňovaniu extracelulárnej DNA (ecDNA) z buniek. Zároveň však zvýšená koncentrácia ecDNA patrí medzi biomarkery rôznych ochorení vrátane sepsy. Dôvodom je, že ecDNA môže byť rozpoznávaná receptormi imunitných buniek a indukovať ďalšiu zápalovú imunitnú odpoveď a prispievať k nadmernej aktivácii zápalových mechanizmov. Predstavuje preto možný terapeutický cieľ. EcDNA môže v plazme pochádzať z jadra buniek alebo z mitochondrií. Štúdie ukázali, že jednou z možností ako znížiť ecDNA je podávanie deoxyribonukleázy (DNázy). Cieľom našej štúdie bolo zaviesť animálny model sepsy a sledovať vplyv podávania DNázy na celkovú ecDNA, ako aj charakterizácia jej jadrového alebo mitochondriálneho pôvodu pri sepe.

Metodika: Sepsa bola indukovaná intraperitoneálnym podaním uropatogénnych E. coli myšiam kmeňa C57BL/6. DNáza bola podávaná intravenózne do chvostovej vény. Prežívanie myší bolo zaznamenávané počas 24 hodín. EcDNA bola izolovaná z plazmy a jej koncentrácia bola meraná použitím fluorometra. Koncentrácia jadrovej a mitochondriálnej DNA bola stanovená real time PCR. V plazme bola stanovená koncentrácia tumor nekrotizujúceho faktora α a myeloperoxidázová aktivita použitím ELISA kitu. DNázová aktivita v plazme bola určená SPRED metódou.

Výsledky: V skupine myší, ktorej bola podávaná DNáza bolo o 60% vyššie prežívanie a koncentrácia ecDNA bola o 63% nižšia v porovnaní s neliečenou skupinou. Množstvo nameraných zápalových markerov bolo nižšie a DNázová aktivita bola dvojnásobne vyššia v DNázovej skupine v porovnaní so septickou skupinou.

Záver: Sepsa ako ťažká infekcia je sprevádzaná prehnanou zápalovou odpoveďou organizmu. Podávanie DNázy malo pozitívny vplyv na prežívanie septických myší, pričom znížená koncentrácia ecDNA bola spojená so znížením akútneho zápalu.

Práca bola podporená grantom No. UK/44/2016

AKTIVÁCIA PI3K/Akt AKO JEDEN Z MOŽNÝCH ENDOGÉNNYCH PROTEKTÍVNYCH MECHANIZMOV INDUKOVANÝCH CVIČENÍM

Lonek E.¹, Farkašová V.¹, Muráriková M.¹, Griecsová L.¹, Pokusa M.², Csánová A.², Hlaváčová N.², Graban J.², Neckář J.³, Hrdlička J.³, Kolář F.³, Ježová D.², Ravingerová T.¹

¹Ústav pre výskum srdca, SAV, Bratislava, Slovenská republika, ²Ústav experimentálnej endokrinológie, Biomedicínske centrum SAV, Bratislava, Slovenská republika, ³Fyziologický ústav Akademie věd České republiky, Praha, Česká republika

Úvod: Rizikové faktory životného štýlu ako nízka fyzická aktivita a obezita majú za následok široký rozsah ochorení kardiovaskulárneho systému (KVS). Výskum poukazuje, že fyzicky aktívne osoby v porovnaní s tými čo majú sedavý spôsob života majú štatisticky nižšie riziko infarktu myokardu. Cvičenie má nielen pozitívny účinok na KVS, ale predstavuje aj jednu z foriem adaptácie - ochranného fenoménu/mechanizmu v myokarde, prostredníctvom ktorého srdce nadobúda zvýšenú odolnosť voči akútnej ischemii. Mechanizmy adaptácie indukovanej cvičením nie sú celkom prebádané, uvažuje sa však o. i. aj o podobných kaskádach „prežitia“ ako v prípade fenoménu ischemického preconditioningu (PC) – RISK a SAFE.

Metodika: V tejto práci sme sa zamerali na vplyv dobrovoľného cvičenia potkanov v „bežeckom“ kolese na srdcové proteíny dráhy PI3K/Akt, ktorá patrí ku kľúčovým mechanizmom zapojeným do kardioprotektívneho (predovšetkým anti-infarktového) účinku pri rôznych formách PC a dlhšie trvajúcej adaptácie. Samce potkanov kmeňa Sprague-Dawley vo veku 8 týždňov boli náhodne rozdelené do dvoch skupín: v skupine RUN potkany dobrovoľne behali v klietkach vybavených „bežeckým“ kolesom po dobu 23 dní. Kontrolné jedince boli v rovnakom čase umiestnené v štandardných klietkach. Na konci experimentu boli v oboch skupinách odobraté vzorky tkaniva srdca pre detekciu hladín proteínov metódou Western blot: celkovej a fosforylovanej (aktivovanej) proteínkinázy B (Akt a pAkt).

Výsledky: U dobrovoľne behajúcich potkanov sme nezaznamenali zmeny v hmotnosti v porovnaní s kontrolnou skupinou. Dobrovoľné behanie potkanov indukovalo signifikantné zvýšenie hladín Akt, pAkt a pomeru fosforylovanej a celkovej Akt v srdci cvičiacich potkanov v porovnaní s necvičiacimi kontrolami.

Záver: Tieto výsledky naznačujú, že v myokarde adaptovanom na fyzickú záťaž sa indukujú prirodzené procesy vlastnej kardioprotekcie. Poukazuje na to zvýšená fosforylácia proteínov zahrnutých v mechanizmoch protektívnej bunkovej signalizácii.

Za podpory grantov VEGA SR 2/0128/14, 2/0201/15, 2/0133/15, APVV-0102-11, APVV-15-0119, MAD-15-17.

MODULÁCIA ALTERNATÍVNEJ DRÁHY RENÍN- ANGIOTENZÍNOVÉHO SYSTÉMU V KOSTROM SVALE ZUCKER POTKANOV

Lóry V.¹, Slamková M.¹, Kršková K.¹, Balážová L.¹, Olszanecki R.², Zórad Š.¹

¹*Biomedicínske centrum Slovenskej akadémie vied, Ústav experimentálnej endokrinológie, Bratislava Slovenská republika;* ²*Chair of Pharmacology, Jagiellonian University Medical College, 31531, Krakow, Poľsko*

Úvod: Nadmerná aktivita klasickej dráhy renín-angiotenzínového systému (RAS) môže narušiť inzulínovú signalizačnú kaskádu v kostrovom svaľe, avšak angiotenzín 1-7 (Ang 1-7) dokáže zvrátiť tento proces. Hlavným limitujúcim faktorom pre podávanie Ang 1-7 je, že je to peptid s krátkym polčasom rozpadu a s nízkou orálnou biologickou dostupnosťou. Diminazén aceturát bol identifikovaný ako aktivátor ACE2, a má potenciál k zvýšeniu aktivity alternatívnej dráhy RAS. Agonista Mas receptora AVE 0991 má podobné účinky ako Ang 1-7, ale so stabilnejšou molekulou s dlhším polčasom rozpadu.

Metodika: 33- týždňové obézne potkany kmeňa Zucker boli rozdelené do dvoch skupín. Prvej skupine bol podávaný 30% roztok cyklodextrínu alebo AVE 0991 v dávke 0,5 mg/kg telesnej hmotnosti/deň v roztoku 30% cyklodextrínu pomocou osmotickej minipumpy po dobu dvoch týždňov. Druhej skupine bol subkutánne podávaný 0,9% roztok NaCl alebo diminazén v dávke 15 mg/kg telesnej hmotnosti v 0,9% roztoku NaCl trikrát týždenne. Génová expresia bola determinovaná vo vzorkách musculus quadriceps pomocou real-time PCR analýzy. Aktivita aminopeptidáz bola stanovená fluorometricky.

Výsledky: Podávanie diminazénu signifikantne zvyšovala expresiu renínu. Terapia AVE 0991 signifikantne zlepšovala glukózovú toleranciu, signifikantne zvyšovala expresiu renínového receptora, transkripčného faktora PLZF a NADPH oxidázy 4 (NOX4), a mala tendenciu k zvýšeniu expresie α podjednotky NADPH oxidázového systému (p22phox). Na aktivitu aminopeptidáz nemali vplyv podané liečivá.

Záver: Bolo dokázané, že reaktívne formy kyslíka (ROS) majú inzulín-mimetické účinky vo svaloch. Naše výsledky naznačujú, že po podávaní AVE 0991 zvýšená produkcia ROS kostrovým svalom prispieva k uľahčeniu inzulínovej signalizácie, čo vedie k zlepšenej glukózovej tolerancii.

Práca bola podporená grantmi: VEGA 2/0174/17 a APVV-15-0229.

STIMULÁCIA A INHIBÍCIA ANGIOGENÉZY NA MODELI CHORIOALANTOICKEJ MEMBRÁNY PREPELICE JAPONSKEJ (COTURNIX JAPONICA)

Máčajová M.¹, Sýkorová M.², Čavarga I.^{1,3}, Bilčík B.¹

¹Ústav biochémie a genetiky živočíchov SAV, Ivanka pri Dunaji, ²Katedra živočíšnej fyziológie a etológie, PriF UK, Bratislava, ³Onkologický ústav svätej Alžbety, Bratislava, Slovenská republika

Úvod: Patologická angiogenéza, pre ktorú je typický nekontrolovaný rast ciev, je sprievodným znakom mnohých ochorení, napr. rakoviny, ale aj reumatoidnej artritídy či diabetickej retinopatie. Dôležitosť výskumu angiogenézy spočíva popri pochopení normálnych procesov prebiehajúcich v organizme, predovšetkým v možnosti uplatniť nadobudnuté poznatky pri vyvíjaní efektívnych terapeutických stratégií pri liečbe závažných chorôb. Chorioalantoická membrána aviárneho embrya (CAM) je vďaka svojim vlastnostiam vhodným modelom na výskum angiogenézy. Hoci doteraz bola väčšina výskumov prevádzaná na modeli kuracej CAM, v poslednej dobe sa vďaka mnohým výhodám dostáva do popredia aj CAM prepelice japonskej. Naším cieľom bolo zistiť vplyv proangiogénnych a antiangiogénnych látok na ex ovo model CAM prepelice japonskej, použitím metódy merania fraktálnej dimenzie a pomocou histologických rezov tkaniva CAM.

Metodika: Na siedmy deň embryonálneho vývinu sme na povrch CAM aplikovali leptín (5 µg na CAM), heparín (75 IU na CAM) a fraxiparín (47,5 IU na CAM) v 500 µl PBS. Po 24 hodinovom pôsobení sme embryá 48 h fixovali, odpreparovali CAM a odfotovali. Na snímkach sme pomocou softvéru ImageJ určili fraktálnu dimenziu vaskulatúry. Päť vzoriek z každej skupiny bolo histologicky analyzovaných.

Výsledky: Na modeli prepeličej CAM sme potvrdili signifikantný pozitívny vplyv aplikácie leptínu na vývin ciev. Zaujímavá je problematika pôsobenia heparínov na proces angiogenézy. Zatiaľ čo nízkomolekulový fraxiparín inhiboval angiogenézu, nefrakciovaný štandardný heparín mal tendencie tento proces indukovať. Vysoko signifikantné boli aj rozdiely medzi leptínom a fraxiparínom. Zmeny potvrdzujúce vplyv skúmaných látok na vaskulatúru potvrdila aj histologická analýza.

Záver: Naše výsledky naznačujú, že prepeličia chorioalantoická membrána je vhodný model na štúdium pro- a anti- angiogénneho pôsobenia látok.

Práca bola podporená grantami: VEGA 2/0102/15 a APVV-15-0485.

POROVNANIE ORGANICKEJ A ANORGANICKEJ SUPLEMENTÁCIE MANGÁNU DO DIÉTY OVIEC A NOSNÍC NA PRODUKCIU ČREVNÉHO HLIENU

Maková Z.¹, Faixová Z.¹, Tarabová L.¹, Piešová E.¹, Venglovská K.², Čobanová K.²,
Grešáková L.², Faix Š.²

¹Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Ústav patologickej fyziológie, Slovenská republika; ²Slovenská akadémia vied, Ústav fyziológie hospodárskych zvierat, Košice, Slovenská republika

Mangán (Mn) je esenciálny stopový prvok, nevyhnutný pre fyziologické funkcie v organizme. Aby sa predišlo jeho deficienciám, je potrebné upravovať diéty vhodnými aditívami. V prvej časti experimentu bol sledovaný vplyv organickej (Mn-Gly) a anorganickej (MnSO₄) formy mangánu na produkciu črevného hlienu u 8 mesačných oviec plemena Zošľachtená valaška, ktorý trval 4 mesiace. Osemnásť kusov zvierat bolo rozdelených do troch skupín (1.skupina – kontrola, bazálna diéta (BD) s 31 mg Mn/kg, 2.skupina – BD + MnSO₄ so 120 mg Mn/kg, 3.skupina – BD + Mn-Gly so 120 mg Mn/kg). V druhej časti experimentu bol sledovaný vplyv organickej (Bioplex) a anorganickej (MnSO₄) formy mangánu na produkciu črevného hlienu u 21 týždňových nosníc plemena Lohman Brown, ktorý trval 8 týždňov. Zvieratá boli rozdelené do 7 replikátov po 4 nosnice v 3 skupinách (1.skupina – kontrola, BD s 46,4 mg Mn/kg, 2.skupina – BD + MnSO₄ so 120 mg Mn/kg, 3.skupina – BD + Bioplex so 120 mg Mn/kg). Hrúbka hlienovej vrstvy v jednotlivých úsekoch tenkého čreva (duodenum, jejunum, ileum, cekum) bola determinovaná kvantifikačnou metódou a vyjadrená v µg AM/cm² čreva (AM-alcianová modrá). U oviec, v tretej skupine s formou Mn-Gly bola hlienová produkcia v duodene a ceku signifikantne znížená (P<0,05) v porovnaní s kontrolou a tiež v duodene v porovnaní s druhou skupinou (MnSO₄). U nosníc k signifikantnému poklesu (P<0,05) hlienu došlo v tretej skupine (Bioplex) v duodene a ceku v porovnaní s druhou skupinou (MnSO₄) a v prípade ceka bola produkcia hlienu vyššia v druhej skupine (MnSO₄) v porovnaní s kontrolou. Výsledky poukazujú na výraznejší pokles črevného hlienu v skupinách s prídavkom Mn vo forme Mn-Gly a Bioplex v porovnaní s prídavkom Mn vo forme MnSO₄. Tento pokles môže predstavovať menšiu hlienovú bariéru a tým lepšiu biologickú dostupnosť mangánu v organickej forme, v čreve oviec, aj nosníc.

Práca bola podporená grantom VEGA č. 1/0374/14 a č. 2/0009/14.

PSYCHOLOGICKÉ A FYZIOLOGICKÉ EFEKTY OMEZENÉ ZEVNÍ STIMULACE NA ČLOVĚKA

Malůš M.¹, Jarkuliš V.², Vavřina Z.², Švorc P.²

¹*Katedra psychologie, Filozofická fakulta Ostravské univerzity, Ostrava, Česká republika,*

²*Ústav fyziologie a patofyziologie, Lékařská fakulta OU, Ostrava, Česká republika*

Úvod: Tento přehledový příspěvek si klade za cíl základní seznámení se specifickou oblastí výzkumů na pomezí psychologie a fyziologie. Od padesátých let dvacátého století byly v rámci experimentální psychologie a psychofyziologie realizovány základní a později i aplikované výzkumy v následující vývojové linii: percepční izolace (perceptual isolation); senzorická deprivace (sensory deprivation); omezená/snížená zevní stimulace (restricted/reduced environmental stimulation, REST). Posledně zmíněná varianta (REST) měla tři základní podoby, a to immersion REST, flotation REST a chamber REST. Varianta immersion REST měla nejbouřlivější dopady na tělesné a zejména psychologické fungování a již několik desetiletí není realizována. U variant flotation a chamber REST předchozí výzkumy prokázaly změny ve fungování na úrovni kognitivní, emocionální, behaviorální i psychofyziologické. Varianty flotation REST a chamber REST jsou co do jejich realizace zásadně odlišné, společným faktorem zůstává redukce zevním podnětů na minimum. V abstraktu bude uveden souhrn dosavadních výsledků společně pro obě varianty.

Výsledky: Množství studií poukázalo na účinky v psychoterapeutickém, behaviorálním i medicínském kontextu: snížení míry stresu a nevhodného chování mezi pacienty s manickými stavy vyvolanými drogovou intoxikací, u anxiózních stavů, u projevů autismu nebo Alzheimerovy choroby; dále byla prokázána redukce fobických symptomů, významně snížen relaps u intervencí vedoucích ke změně zvykového chování (např. kouření, konzumace alkoholu a hubnutí), zlepšení bylo popsáno u zvládnutí stresu a bolesti hlavy, insomnie a jiných se stresem souvisejících symptomů; dokonce bylo pozorováno zlepšení v ovládnutí svalů mezi pacienty s cerebrálním ochrnutím.

Závěr: Šíře aplikačních možností floatingu nebo chamber RESTu, použitých jednotlivě nebo v kombinaci s jinými intervencemi, odůvodňují další základní i aplikovaný výzkum.

Práce byla podpořena grantem SGS10/FF/2016-2017 Experimentální studie kognitivních a psychofyziologických procesů v podmínkách Chamber REST II.

EFFECTS OF ESSENTIAL OILS FROM AROMATIC AND MEDICINAL PLANTS ON GROWTH ABILITY AND DIGESTION OF LABORATORY MICE

Marcin A., Nad' P.

Institute of Animal Nutrition, Dietetics and Feed Production, University of Veterinary Medicine and Pharmacy, Košice, Slovak Republic

Introduction: The application of growth additives based on antimicrobials into feeds of food producing animals was banned in the EU in 1996. Therefore, the activities of research centres were intensified to find alternatives. The aim of study was to select suitable combination of essential oils (EO) from aromatic and medicinal plants improving growth ability and stimulating activity of some digestive enzymes in GIT of laboratory mice.

Methods: Four feeding experiments were performed with laboratory ICR outbred mice (males / females) using a feed mixture (CP 170.0, fibre 115.0, fat 27.0, Lys 7.0, Met + Cys 6.7, Ca 9.0, P 6.0 g.kg⁻¹ DM; ME 10 MJ .kg⁻¹ DM) for all groups. EO isolated from aromatic – oregano (OR; carvacrol 65%), cinnamon (CN; eugenol 77%), clove (CL; 85% eugenol), thyme (TH; thymol 45, p-cymen 21.5, gamma-terpinene 7.5, linalool 5.2) and medicinal plants – sage (SA; cineole 14, thujon 25, borneol 17%) were added into feeds of experimental groups. One negative control group was present in each experiment. The quantification of DM, CP (Kjeldahl, 1883) and organic matter in faeces was performed after 21 d dietary intake of EO from OR, CN and CL with dosage 0.5 ml.100 g⁻¹ feed in the 1st experiment (4 groups, n = 24, age 120 d). The quantitative analyses of protein concentration (Bradford, 1976), amylolytic (Spofa test, Praha), cellulolytic (Lever, 1977) and proteolytic activities (Broderick, 1987) were performed in chyme of duodenum (D), small (SI) and large intestine (LI), caecum (CE), as well as in rectum (RE) in the 2nd trial (6 groups, n = 36, age 63 d). EO from SA, CN, TH, OR and combination of OR with SA were added into feed mixtures for 14 d. The dosage of all EO was 0.42 except OR 0.21 ml.100 g⁻¹ feed for 14 d. The last two experiments determined the growth ability of micromammals after peroral intake of EO from TH and CN (3 groups, n = 18, age 28 d, dosage 0.50 ml.100 g⁻¹ feed) for 58 d or blend of oregano with sage (2 groups, n = 12, age 28 d, dosage 0.21 and 0.42 ml.100 g⁻¹ feed) for 30 d.

Results: The highest concentration of CP in faeces was observed in the OR group (p<0,01). The protein concentrations were higher (p<0,01) after dietary intake of blend of OR with SA in all parts of GIT as well as TH and SA in LI or RE. The amylolytic activity was increased (p<0,01) in the case of addition of blend OR with SA in SI and LI. The increase of proteolytic activity (p<0,01) was observed after intake of SA, TH and blend OR with SA in SI as well as after addition of TH and SA in LI and RE. The enhancement of cellulolytic activity (p<0,01) was determined after intake of OR, CN and blend of OR with SA in LI and CE as well as CN in CE. There were not demonstrated any statistical differences among groups in the case of growth rate.

Conclusions: The peroral intake of blend of EO from OR (*Origanum vulgare* L.) with SA (*Salvia officinalis* L.) increased the weight gains by 25%. This one stimulated the activities of digestive enzymes in the chyme of intestinal apparatus of laboratory mice in the experimental group compared to control as follows: amylolytic by 4,138 mkat.l⁻¹.g⁻¹ and proteolytic by 282.2 mg azoalbumin.g⁻¹ in SI (p<0.01), cellulolytic by 23,578 in LI and by 34,871 mmol glucose.l⁻¹.g⁻¹ in CE (p<0.01).

This study was supported by the grant KEGA-009UVLF-4/2015.

**SYMPATHETIC ACTIVATION MEDIATES THE STRESS-INDUCED
IMPAIRMENT OF COGNITIVE FLEXIBILITY**

Marko M., Riečanský I.

*Laboratory of Cognitive Neuroscience, Institute of Normal and Pathological Physiology,
Slovak Academy of Sciences, Bratislava, Slovak Republic*

Cognitive flexibility emerges from the interplay of multiple cognitive systems, of which lexical-semantic and executive are thought to be the most important. Yet this has been largely ignored by previous research demonstrating that such forms of flexible thought deteriorate under stress. Motivated by this shortcoming, we evaluated several specific neurocognitive mechanisms implied to mediate the impairing effects. Fifty-seven healthy adults were randomly assigned to psychosocial stress or control condition and assessed for performance on cognitive flexibility, working memory capacity, and semantic fluency. Stress response was indicated by changes in skin conductance, heart rate, cognitive interference, and state anxiety. The results showed that stress impaired cognitive flexibility and this effect could be explained by the increased sympathetic activation which presumably modulates semantic retrieval processes. Although working memory capacity was also impaired under stress, this effect was unrelated to sympathetic arousal, indicating a different neurobiological mechanism.

Grant support: APVV-14-0840.

IMPACT OF HIND LIMB PRECONDITIONING ON GLUTAMATE CONCENTRATION IN BLOOD AND BRAIN TISSUE AFTER GLOBAL BRAIN ISCHEMIA

Matiašová M., Gottlieb M., Némethová M., Jachová J., Bonová P.

Institute of Neurobiology, Slovak Academy of Sciences, Košice, Slovak Republic

Introduction: Ischemic preconditioning has been firmly established as an endogenous protective mechanism for the reduction of cerebral ischemia injury. The aim of the study was to observe the level of glutamic acid in blood and in brain tissue after hind limb preconditioning followed by lethal global brain ischemia.

Material and methods: The animals were subjected to a four-vessel occlusion model of transient forebrain global ischemia. Glutamate concentration was measured by a modified enzymatic-fluorimetric method. For identification of impact on brain cells we used Fluoro JadeB staining to detect degenerating neurons and NeuN immunostaining for visualisation of surviving neurons.

Results: We confirmed that glutamate concentration in CA1 region of hippocampus in preconditioned animals on fifth day is approximately on the same level, in cortex decreased by about 34% compared to control. Histological profile confirms any damaged neurons. Moreover, behavioural testing using Barnes maze suggesting memory improvement in those animals. In contrast to this, decreasing of glutamate concentration in both structures was monitored in ischemic groups. In blood samples of preconditioned rats, two waves of glutamate increasing were observed. Hind limb ischemia led to growth of excitotoxicity at 60min of reperfusion, but led to stabilization of its level after ischemic attack, even 7 days after ischemia. In ischemic group, maximum concentration of glutamic acid was observed on first day of reperfusion.

Conclusion: Biochemical, histological and behavioural observation of hind limb preconditioning followed by lethal global brain ischemia confirms its positive effect against cerebral injury.

Supported by VEGA 2/0012/15 and 2/0045/15.

VPLYV INTERAKCIE NADVÁHY A HYPERTENZIE NA ARTERIÁLNU TUHOŠŤ V ADOLESCENTNOM VEKU

Mešťaník M.¹, Jurko A.², Jurko T.³, Mešťaníková A.^{1,4}, Višňovcová Z.¹, Langer P.^{5,6}, Tonhajzerová I.^{1,4}

*Univerzita Komenského v Bratislave, Jesseniova lekárska fakulta v Martine (JLF UK),
¹Martinské centrum pre biomedicínu JLF UK, ²Pediatrická kardiológia, Martin,
³Neonatologická klinika JLF UK a Univerzitná nemocnica Martin, ⁴Ústav fyziológie JLF UK,
Slovenská republika; ⁵Ústav prístrojovej techniky AV ČR, v.v.i., Brno, ⁶Mezinárodní centrum
klinického výzkumu Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně, Brno, Česká republika*

Úvod: Arteriálna tuhosť predstavuje ukazovateľ subklinického poškodenia stien artérií. Nová metóda hodnotenia arteriálnej tuhosti pomocou indexu CAVI (cardio-ankle vascular index) preukázala prítomnosť včasných arteriosklerotických zmien už u adolescentov s esenciálnou hypertenziou. Paradoxne, u zdravých detí s nadváhou bola zistená nižšia tuhosť artérií. Cieľom tejto práce bolo štúdium vplyvu interakcie hypertenzie a nadváhy ako rizikových faktorov kardiovaskulárnych komplikácií na arteriálnu tuhosť v adolescentnom veku.

Metodika: Vyšetrených bolo 15 adolescentov s esenciálnou hypertenziou s nadváhou (16,9±1,6 r., body mass index (BMI): 28,0±1,1 kg/m²), 15 adolescentov s esenciálnou hypertenziou s normálnou váhou (16,9±1,7 r., BMI: 22,3±1,3 kg/m²) a 15 zdravých kontrol s normálnou váhou (16,9±1,1 r., BMI: 21,5±1,3 kg/m²). Index arteriálnej tuhosti CAVI bol hodnotený systémom VaSera 1500N (Fukuda Denshi, Japonsko) za štandardných podmienok.

Výsledky: Index CAVI bol signifikantne vyšší v skupine adolescentných hypertonikov s normálnou váhou v porovnaní s kontrolnou skupinou a hypertonikmi s nadváhou (p=0,003, p=0,005 v uvedenom poradí). Skupina adolescentných hypertonikov s nadváhou nepreukázala signifikantný rozdiel v indexe CAVI v porovnaní s kontrolnou skupinou.

Záver: Arteriálna tuhosť hodnotená indexom CAVI bola oproti kontrolnej skupine zvýšená u adolescentných hypertonikov s normálnou váhou, nie však u hypertonikov s nadváhou. Napriek vyššiemu riziku kardiovaskulárnych ochorení v dospelosti, vplyv hypertenzie na tuhosť artérií u adolescentov s nadváhou by mohol byť maskovaný potenciálnym efektom telesnej kompozície na elasticitu cievnej steny. Tieto zistenia môžu napomôcť k pochopeniu patofyziologických vzťahov medzi hypertenziou, nadváhou a arteriosklerotickými zmenami v adolescentnom veku.

*Práca bola podporená projektom „Martinské centrum pre biomedicínu (BioMed Martin)“
ITMS kód projektu: 26220220187, ktorý je spolufinancovaný zo zdrojov EÚ a grantom VEGA
1/0087/14.*

ZMĚNY VE STATICKÉ PERIMETRII BĚHEM CHAMBER REST-U. PILOTNÍ STUDIE

Michalčák T.¹, Maluš M.², Černocký O.¹, Vavřina Z.¹, Kempný M.¹, Ekrťová T.¹, Konečný J.¹, Vavříková M.¹, Švorc P., Jr.¹

¹Ústav fyziologie a patofyziologie, Lékařská fakulta, Ostravská univerzita, Ostrava,

²Katedra psychologie, Filozofická fakulta, Ostravská univerzita, Ostrava, Česká republika

Úvod. Cílem této pilotní studie bylo vyhodnotit efekt CHAMBER REST-u na zorné pole u mladých lidí. Výsledky této experimentální léčebné metody, která je založena na pobytu v úplné tmě za účelem zlepšení zdraví lidí pod neustálým stresem a vlivem vnějšího prostředí, napovídají, že by mohla také příznivě ovlivňovat stav citlivosti sítnice a její regeneraci.

Metodika. Hodnocení probíhalo u 14 studentů ve věku od 19 do 26 let, umístěných na 96 hodin do speciální místnosti s maximální tmou. Místnost splňovala podmínky pro pohodlný pobyt a byla umístěna na tichém místě. Účastník během pobytu nepoužíval žádné zařízení, které by vydávalo světlo. Měření probíhalo den před nástupem na pobyt, v den ukončení pobytu cca 30 minut po výstupu ze tmy a následně čtvrtý a sedmý den po pobytu. Celkově se získali výsledky ze 4 měření na levé a pravé oko u každého studenta. Vyšetřování zorného pole probíhalo za pomoci přístroje OCULUS Centerfield 2. Pro měření se používal program Macula Threshold na testování statické perimetrie a pro vyhodnocení se použil globální index zorného pole Mean Defect (MD), který charakterizuje střední ztrátu citlivosti v zorném poli a je nejdůležitějším indexem popisujícím celkové poškození zorného pole.

Výsledky. V pilotní studii po zpracování výsledků jsme porovnávali parametr MD, a to z měření den před nástupem do tmy a sedmý den po pobytu. V experimentální skupině došlo v 71,4 % ke zlepšení u obou očí, ve 21,4 % ke zlepšení pouze u jednoho oka a ve zbylých 7,2 % nedošlo k žádnému zlepšení citlivosti sítnice. Po celkovém statistickém vyhodnocení celé experimentální skupiny po prvním a posledním měření se objevila vyšší míra signifikantnosti ve změnách parametru MD ($p < 0,05$).

Závěr. Z našich výsledků vyplývá fakt příznivého dlouhotrvajícího vlivu tmy na sítnici a tudíž i na zorné pole u mladých lidí. Nicméně je rozhodně zapotřebí verifikovat toto tvrzení na větším souboru lidí a jistě bude vyžadovat další zkoumání.

Práce byla podpořena grantem No. SGS10/FF/2016-2017

EXOGENNÝ SURFAKTANT OBOHATENÝ O PROTILÁTKU ANTI-CXCL8 ZMIERŇUJE EXPERIMENTÁLNE RESPIRAČNÉ ZLYHÁVANIE VYVOLANÉ ASPIRÁCIOU MEKÓNIA

Mikolka P.¹, Kopincová J.^{1,2}, Košútová P.², Kolomazník M.¹, Rezákova S.², Čalkovská A.^{1,2}, Mokrá D.^{1,2}

¹*Martinské centrum pre biomedicínu,* ²*Ústav fyziológie, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave, Martin, Slovenská republika*

Úvod: Aspirácia mekónia/smolky môže u novorodencov vyvolať závažné hypoxemické respiračné zlyhávanie – syndróm aspirácie mekónia (MAS). Podporná ventilácia a exogénny surfaktant i. t. je terapiou prvej voľby závažného MAS. Samotné mekónium je zdroj prozápalových mediátorov; obsiahnutý/indukovaný chemoatraktant cytokín IL-8 vyvoláva influx neutrofilov a iniciuje zápalové a pro-oxidačné procesy, ktoré môžu inter alia inaktivovať surfaktant. Kombinácia exogénneho surfaktantu s protilátkou anti-CXCL8 proti IL-8 i. t. môže utlmiť influx neutrofilov/zápal a tým redukovať poškodenie surfaktantu, čo prispeje k zlepšeniu pľúcnych funkcií pri experimentálnom MAS.

Metodika: Konvenčne ventilované (FiO₂ 1,0) Novozélandské biele králiky s mekóniom-indukovaným respiračným zlyhávaním boli rozdelené do skupín: bez terapie (M), surfaktantová terapia (M+S) a kombinovaná terapia (M+S+anti-CXCL8). Krvné plyny a ventilačné parametre, t. j. PaO₂, PaCO₂, O₂ saturácia (SatO₂), PaO₂/FiO₂, oxygenačný index (OI), index účinnosti ventilácie (VEI), stredný tlak v dýchacích cestách (MAP), dynamická poddajnosť pľúc (C_{dyn}) a alveolárno-arteriálny gradient (AaG), boli analyzované pred a 30 min po mekóniu i.t. a 30 min, 1, 2, 3, 4, 5 h terapie. Celkový a diferenciálny počet leukocytov bol stanovený v bronchoalveolárnej laváži (BAL). Skupinové rozdiely boli hodnotené ANOVA testom.

Výsledky: Kombinovaná terapia M+S+anti-CXCL8 zlepšila PaO₂/FiO₂, OI, VEI a C_{dyn} v 2 h terapie v porovnaní so surfaktantom (p<0,05 vs. M+S) a výrazne znížila počet neutrofilov a monocytov v BAL (p<0,01 a p<0,05 vs. M). Pri ostatných parametroch, t.j. SatO₂, PaCO₂, AaG, MAP, mali obidve terapie M+S aj M+S+anti-CXCL8 porovnateľný účinok vs. M.

Záver: Monoklonálna protilátka anti-CXCL8 v kombinácii s exogénnym surfaktantom i. t. lepšie stabilizovala krvné plyny a pľúcne funkcie a výraznejšie znížila počet neutrofilov a monocytov v BAL. Cílené inhibovanie influxu neutrofilov a tým aj mekóniom-indukovaného zápalu môže prispieť k väčšej stabilite terapeutického surfaktantu a efektívnejšej terapii MAS.

Podporené: VEGA 1/0305/14, VEGA 1/0469/16, APVV-15- 0075, APVV-0435- 11

MODULÁCIA MITOCHONDRIOVÝCH CHLORIDOVÝCH KANÁLOV DONORMI OXIDU DUSNATÉHO

Mišák A.¹, Štrbavý A.^{1,2}, Grman M.¹, Ondriaš K.¹

¹Ústav klinického a translačného výskumu, Biomedicínske centrum SAV, Bratislava, ²Fakulta matematiky, fyziky a informatiky, Univerzita Komenského, Bratislava, Slovenská republika

Úvod: Mitochondriové chloridové (mCl⁻) kanály sa zúčastňujú na regulácii procesov spojených s udržiavaním mitochondriových funkcií a bunkovej fyziológie. Modelové štúdie ukázali, že mCl⁻ kanály zohrávajú taktiež amplifikačnú úlohu v procesoch súvisiacich s kolísaním mitochondriového membránového potenciálu v kardiomyocytoch vystavených oxidačnému stresu, s následným rozvojom srdcových arytmií. Modulácia funkcie mCl⁻ kanálov môže byť východiskom terapeutických aplikácií zameraných na patologické stavy, ktoré sú vyvolané procesmi integrujúcimi mCl⁻ kanály. Cieľom tejto práce bolo preskúmať, či donory oxidu dusnatého (NO): DEA NONOát a nitrózopersulfid (SSNO⁻) môžu modifikovať funkčné charakteristiky mCl⁻ kanálov.

Metodika: Membránové frakcie obsahujúce mCl⁻ kanály sme izolovali zo srdcových mitochondrií potkanov kmeňa Wistar. Moduláciu funkčných vlastností mCl⁻ kanálov sme sledovali na úrovni jedného kanálového proteínu použitím metódy rekonštitúcie iónového kanálu do umelej lipidovej dvojvrstvy (BLM, z angl. bilayer lipid membrane). NO donory: DEA NONOát bol komerčne dostupný (Cayman Chemicals), SSNO⁻ bol pripravený laboratórne, reakciou S-nitrózoglutatiónu (GSNO) a sulfánu (H₂S). Aplikácia DEA NONOátu (500 μmol.l⁻¹) a SSNO⁻ (50 μmol.l⁻¹) bola urobená pre obe (cis a trans) strany BLM.

Výsledky: Pridanie DEA NONOátu viedlo k poklesu amplitúdy prúdu nezávisle na strane aplikácie. Tento účinok bol premietnutý aj v zníženej vodivosti z trans strany. Aplikácia SSNO⁻ nemala žiaden účinok na vodivosť mCl⁻ kanálov. Pridanie SSNO⁻ na cis stranu membrány zvýšilo aktivitu mCl⁻ kanálu (tento výsledok sme nepreukázali pre trans stranu). Po aplikácii DEA NONOátu sme nepozorovali žiadnu zmenu v aktivite mCl⁻ kanálov.

Záver: Výsledky naznačujú perspektívnu vlastnosť molekuly SSNO⁻ ako modulátora aktivity mCl⁻ kanálov. Je nutné však podotknúť, že tento účinok môže byť (čiastočne) spôsobený ďalším modulačným agensom, napríklad medziproduktom alebo rozpadovým produktom, ktoré môžu byť formované v reakčnej zmesi počas tvorby SSNO⁻.

Práca bola podporená grantom VEGA/2/0146/16, APVV-15-0565 a APVV-15-0371.

ÚČINKY TROCH TYPOV ŠETRIACEJ PĽÚCNEJ VENTILÁCIE NA PĽÚCNE FUNKCIE EXPERIMENTÁLNYCH ZVIERAT S MODELOM SYNDRÓMU ASPIRÁCIE MEKÓNIA

Mokrá D., Tomčíková Mikušiaková L., Mikolka P., Košútová P., Jurček M., Kolomazník M., Čalkovská A.

Martinské centrum pre biomedicínu (BioMed) a Ústav fyziológie, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave, Malá Hora 4C, Martin, Slovenská republika

Úvod: Syndróm aspirácie mekónia (MAS) novorodencov v závažných prípadoch vyžaduje použitie umelej ventilácie pľúc (UVP). V záujme minimalizovania ďalšieho možného poškodenia sa v súčasnosti preferujú šetriace nízkoobjemové ventilačné techniky. Nakoľko chýbajú informácie o možných výhodách alebo obmedzeniach použitia týchto techník v liečbe MAS, cieľom našej štúdie bolo porovnať efekt 3 typov šetriacej ventilácie na pľúcne funkcie zvierat s umelo navodeným MAS počas nasledujúcich 4 h ventilácie.

Metodika: Model MAS sme vytvorili i.t. podaním novorodeneckého mekónia (25 mg/ml, 4 ml/kg) králikom. Po vyvolaní respiračného zlyhávania sme zvieratá ventilovali konvenčnou mechanickou ventiláciou (CMV), vysokofrekvenčnou oscilačnou ventiláciou (HFOV) alebo vysokofrekvenčnou tryskovou ventiláciou (HFJV) počas 4 h po vytvorení modelu MAS, jednu skupinu zvierat tvorili zdravé neventilované kontroly. Počas experimentu sme zaznamenávali hodnoty ventilačných parametrov, krvných plynov a počtu leukocytov v krvi. Po usmrtení zvierat sme určili celkový a diferenciálny počet buniek v bronchoalveolárnej lavážnej tekutine (BAL), stanovili stupeň pľúcneho edému z pomeru vlhkej a suchej hmotnosti pľúc a odmerali koncentrácie prozápalových cytokínov (IL-1 β , TNF α , IL-8) v homogenáte pľúc a v krvnej plazme. Údaje sme spracovali pomocou ANOVA testu.

Výsledky: Intratracheálne podanie mekónia v priebehu 30 min spôsobilo významný pokles poddajnosti pľúc a zhoršilo výmenu krvných plynov. Všetky nami použité typy UVP dokázali zabezpečiť efektívnu výmenu plynov bez významných rozdielov medzi ventilovanými skupinami. Jednoznačné rozdiely medzi jednotlivými typmi ventilácie sme nezaznamenali ani pri porovnaní úrovne tvorby pľúcneho edému a koncentrácií prozápalových cytokínov.

Záver: Nízkoobjemové typy UVP (CMV, HFOV a HFJV) zabezpečili adekvátnu ventiláciu experimentálnych zvierat s MAS s porovnateľnou úrovňou tvorby pľúcneho edému a zápalu.

Práca bola podporená projektami: BioMed Martin (ITMS 26220220187), APVV-15-0075, VEGA 1/0305/14.

EFEKT INTERLEUKÍNU 35 NA STIMULÁCIU MONOCYTOV A T LYMFOCYTOV – ÚČASŤ V ROZVOJI REUMATOIDNEJ ARTRITÍDY

Mravcová M.¹, Vlček M.², Penesová A.², Imrich R.²

¹Ústav experimentálnej endokrinológie BMC SAV, Bratislava, ²Ústav klinického a translačného výskumu BMC SAV, Bratislava, Slovenská republika

Úvod: Reumatoidná artritída (RA) predstavuje chronické systémové zápalové ochorenie, na etiopatogenéze ktorého sa významne podieľa dysbalancia medzi aktivitou prozápalových a imunoregulačných cytokínov. Nedávno objavený cytokín interleukín 35 (IL-35), podľa mnohých štúdií, preukazuje výrazné protizápalové pôsobenie na bunky imunitného systému, čo by mohlo viesť k využitiu jeho účinkov v liečbe reumatoidnej artritídy ako aj iných autoimunitných ochorení. Preto cieľom našej práce bolo sledovať efekt IL-35 na vybrané populácie imunitných buniek, ktoré sú dôležité pri rozvoji RA.

Metodika: U 41 pacientov s RA a 43 kontrol bola ELISA kitom zameraná koncentrácia IL-35 v sére. Mononukleárne bunky periférnej krvi (PBMC) boli izolované od 14 RA pacientov a 13 zdravých kontrol. CD14⁺ (monocyty) a CD4⁺ (pomocné T lymfocyty) bunky sme izolovali použitím magnetickej separácie (Miltenyi Biotec) a tieto boli následne kultivované v 3 podmienkach: nestimulované, stimulované (monocyty LPS, T lymfocyty anti-CD3/anti-CD28) a stimulované v prítomnosti IL-35. Po 24 hodinách kultivácie boli v médiách stanovované hladiny 9 cytokínov: IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 (p70), IL-17a, IFN- γ , MIP-1 β a TNF.

Výsledky: U pacientov s RA sme zistili signifikantne vyššie koncentrácie IL-35 v sére v porovnaní so zdravou populáciou ($63,38 \pm 14,77$ pg/ml vs. $14,52 \pm 1,66$ pg/ml; $p < 0,01$). V cytokínovej odpovedi monocytov a T lymfocytov na nešpecifickú stimuláciu sme nenašli signifikantné rozdiely medzi RA a kontrolnou skupinou. Pridanie IL-35 k stimulovaným monocytom a T lymfocytom nepreukázalo výrazný efekt na produkciu prozápalových cytokínov, avšak pozorovali sme efekt na zníženie produkcie IL-10.

Záver: Naše výsledky poukazujú na možnú úlohu IL-35 v patogenéze RA, aj keď efekt IL-35 na izolované monocyty a pomocné T lymfocyty sa nezdá byť výrazný.

Práca bola podporená grantom VEGA 2/0161/16

PROTEOMICKÁ ANALÝZA POSTISCHEMICKÉHO NEOKORTE XU POTKANA PO POUŽITÍ VZDIALENÉHO POSTKONDITIONOVANIA

Némethová M.¹, Talian I.², Bober P.², Tkáčiková S.², Bonová P.¹, Matiašová M.¹

¹Neurobiologický ústav SAV, Košice, Slovenská republika; ²Ústav lekárskej a klinickej biofyziky, Lekárska fakulta UPJŠ, Košice, Slovenská republika

Úvod: Cerebrálna ischémia patrí medzi najzávažnejšie príčiny smrti alebo trvalej invalidity. Nádejným postupom z hľadiska redukcie ischemického poškodenia a ochrany citlivých neurónov sa zdá byť koncept navodenia ischemickej tolerancie (IT). Spôsob vyvolania tolerancie použitím stresora lokálne (napr. v jednom svale - vzdialený postkondicioning) spôsobuje rezistenciu aj u nestresovaného tkaniva. Napriek tomu, že mechanizmus vzniku IT nie je úplne objasnený, bolo dokázané, že navodeniu IT predchádzajú zmeny tak na úrovni expresie génov, ako aj na úrovni proteínovej. Cieľným navodením ischémie u potkana s nadväzujúcou aplikáciou turniketového zaškrtania panvovej končatiny a proteomickou analýzou mozgovej kôry sme sa pokúsili prispieť k objasneniu metabolických ciest a mechanizmov, ktoré by mohli napomáhať vzniku IT.

Metodika: V experimente bola potkanom navodená globálna ischémia 4-cievny m podväzom. Po jej ukončení bolo aplikované turniketové zaškrtanie panvovej končatiny. Po 3 dňoch prežívania boli natívne mozgy zvierat spracované na analýzu na hmotnostnom spektrometri (MS) v spojení s kvapalinovou chromatografiou (LC). Tryptické peptidy vo vzorkách z postkondicionovaného neokortexu boli separované na nanoHPLC s následnou tandemovou MS analýzou na iónovej pasci (ESI ITMS). Identifikované proteíny boli porovnané s databázou SwissProt vyhľadávacím algoritmom Mascot s toleranciou 500 ppm pri parentálnej hmote a 0,6 Da pri fragmentácii peptidov pre taxonomický druh *Rattus norvegicus* s modifikáciami: karbamidometylácia C (fixná) a oxidácia M, acetylácia n a fosforylácia STY (variabilné).

Výsledky: Celkovo bolo identifikovaných 118 proteínov spolu vo všetkých experimentálnych skupinách. V kontrolnej a ischemickej skupine bol ich počet zhodný, 95 proteínov. Po aplikácii turniketu na panvovej končatine bolo v neokortexe identifikovaných 106 proteínov, z toho 15 proteínov bolo prítomných iba vo vzorkách po ischémii s navodením IT vzdialeným postkondicionovaním. Tento súbor proteínov bol analyzovaný v bioinformatickej databáze pre reakčné dráhy (Reactome.org). Medzi identifikovanými proteínmi dominovala glutatión-S-transferáza, zahrnutá v detoxikačnom cykle reaktívnych kyslíkových radikálov a konjugácie glutatiónu - spolu s peroxiredoxínom-6, ktorý sa podieľa na detoxikácii reaktívnych kyslíkových radikálov redukciou peroxidu, ako aj na odstraňovaní mastných kyselín s krátkym reťazcom a fosfolipidových hydroperoxidov. Uvedené proteíny hrajú významnú úlohu pri zvýšení aktivity endogénnych procesov, ktoré sa podieľajú na ochrane neurónov pred oxidatívnym stresom. Aktivitu dráhy biologickej oxidácie podporila aj identifikácia alkoholdehydrogenázy [NADP(+)] - oxidoreduktázy, zúčastňujúcej sa katabolizmu aldehydov a D-glukuronátu, a ktorá je zahrnutá aj v biosyntetickom procese kyseliny L-askorbovej.

Záver: Na základe dosiahnutých výsledkov môžeme konštatovať, že vzdialený postkondicioning aplikovaný po ischemickom poškodení prispieva k udržaniu/aktivácii endogénnych procesov v bunkách mozgovej kôry, ktoré sú aktívne zahrnuté v metabolickej dráhe biologickej oxidácie a zúčastňujú sa na ochrane poškodeného tkaniva pred následkami oxidatívneho stresu.

Práca bola podporená VEGA grantmi 2/0012/15 a 2/0045/15.

POKLES KARDIORESPIRAČNÍ KAPACITY ZDRAVÝCH OSOB V ZÁVISLOSTI NA VĚKU

Novák J.¹, Zeman V.¹, Štork M.²

¹Ústav tělovýchovného lékařství LF UK, ²Katedra aplikované elektroniky FEL ZČU, Plzeň, Česká republika

Úvod: Maximální spotřeba kyslíku VO₂max je nejvýznamnějším markerem kardiorespirační kapacity. Ta dosahuje maxima ve 3. deceniu, pak dochází k postupnému poklesu, na němž se podílí řada faktorů. Významným faktorem, který ovlivňuje kardiorespirační kapacitu, je životní styl.

Metodika: Z databáze všech osob v evidenci ÚTL LF UK v Plzni v letech 1994 až 2015 byly vybrány protokoly těch vyšetřených, které poskytovaly údaje o vyšetření všech zdravých osob včetně zátěžového testu na bicyklovém ergometru (n=2777, 2015 mužů a 765 žen). Zátěžový test spočíval ve stupňovaném zatížení do vyčerpání, odpovídající metodice použité v rámci Mezinárodního biologického programu IBP (Seliger a Bartůněk 1974). Vyšetření byli rozděleni do 4 skupin podle charakteru jejich sportovní aktivity. U každé z těchto skupin byla vyhodnocena dynamika změn kardiorespirační kapacity (podle VO₂max a VO₂max/kg) ve ve čtyřech až pěti věkových kohortách.

Výsledky: Nejvyšší hodnoty VO₂max a VO₂max/kg byly podle očekávání zjištěny u skupiny vytrvalců a vytrvalkyň. Ve vyšších věkových skupinách byl patrný postupný pokles kardiorespirační kapacity, na němž se podílela změna tréninkového zatížení, vyšší podíl tukové tkáně a pravděpodobně i další faktory. Přestože u jednotlivých skupin mužů byl pokles VO₂max u vytrvalců a dalších sportujících skupin (sportovní hry a „ostatní“) obdobný jako u skupiny rekreačně sportujících (u VO₂max/kg o 13 až 17%), i ve vyšších deceniích si sportující skupiny udržovaly kardiorespirační kapacitu na úrovni výrazně mladších věkových kohort. Naproti tomu u žen byl pokles VO₂max/kg u rekreačně sportujících nejvýraznější (o 23%), zatímco u vytrvalkyň byl tento ozdím nevýznamný (jen o 2 %).

Závěr: Věkový pokles kardiorespirační kapacity je přirozeným jevem stárnutí. Zpomalit, či dokonce zvýšit ji lze jedině vhodnou pohybovou aktivitou. Výsledky této průřezové studie ukazují, že dlouhodobě závodně sportující populace se může vyvarovat předčasného poklesu zdatnosti a udržet si i do vyšších decenií svůj výrazně nižší „fitness age“.

HYPOXIA, ACIDÓZA A ZMENY MIKROPROSTREDIA V PROCESE KARCINOGENÉZY

Nováková J., Lovásová E., Cimboláková I.

Ústav patologickej fyziológie, Lekárska fakulta, Univerzita P. J. Šafárika, Košice, Slovenská republika

Rast a delenie buniek v procese karcinogenézy kladú zvýšený nárok na krvné zásobenie a v krátkom čase prekročia možnosti zásobenia už existujúcimi cievami. Dochádza k procesom, ktoré majú za úlohu zvýšiť cievne zásobenie novovznikajúceho tkaniva prostredníctvom cievnej novotvorby a zároveň dochádza v tomto tkanive k zmenám, ktoré favorizujú bunky a línie, ktoré sú schopné prežiť aj v prostredí s nižším obsahom kyslíka. Dochádza k selekcii klonov schopných získavať energiu aj inou cestou, ako je oxidatívna fosforylácia.

Pri nedostatku kyslíka dochádza v zmenenom tkanive k aktivácii transkripčných faktorov (HIF1), ktoré sú zodpovedné za aktiváciu faktorov vedúcich k angiogenéze a zmene metabolizmu z oxidatívnej fosforylácie na anaeróbnú glykolýzu. Na angiogenéze sa podieľa VEGF (vaskulárny endoteliálny rastový faktor). Novovzniknuté cievy rastú chaoticky a nedosahujú takú kvalitu ako cievy „zdravého“ tkaniva. V karcinogenéze VEGF nemá len funkciu iniciovať novotvorbu ciev, ale je schopný ovplyvňovať bunky imunitného systému alebo regulovať funkciu fibroblastov v stróme tumoru. Druhú skupinu faktorov so zvýšenou expresiou predstavujú faktory, ktoré sú zodpovedné za transport glukózy do bunky (GLUT1) a veľká skupina enzýmov zabezpečujúcich glykolýzu (hexokináza, fosfoglukózoizomeráza a ďalšie, enoláza, laktátdehydrogenáza). So zmenou metabolizmu buniek na anaeróbnú glykolýzu dochádza takisto k zvýšenej produkcii laktátu a protónov, ktoré prispievajú k zmene pH bunky. V tumorovom tkanive dochádza k zvýšenej expresii karbonickej anhydrázy IX, ktorá je zodpovedná za balansovanie vnútrobunkového pH a dysbalanciu pH okolitého tkaniva (nepriamo cez transport vyprodukovaných H⁺).

V dôsledku hypoxie dochádza v nádorovom tkanive k postupnej tvorbe nekrotických ložísk, odumieraniu buniek, ktoré neboli schopné prispôsobiť svoj metabolizmus zmeneným podmienkam prostredia. Klony alebo bunky, ktoré boli schopné zmeniť svoj metabolizmus a prispôsobiť sa, či už zmenou energetického metabolizmu (glykolýza) a následne schopnosťou korigovať zmenu pH sú základom pre vznik agresívnejšej formy nádorového tkaniva, čo spôsobuje aj terapeutické problémy pre zníženú citlivosť alebo rezistenciu takéhoto tkaniva voči terapii.

ZMENY EXCITABILITY HIPOKAMPÁLNYCH NEURÓNOV KULTIVOVANÝCH NA IN VITRO MODELI FIBROTICKEJ JAZVY

Ondáčová K., Lapínová L., Jurkovičová D., Lacinová Ľ.

Centrum biovied SAV, Bratislava; KRD molecular technologies s.r.o., Bratislava, Slovenská republika

Úvod: Mechanické poškodenie centrálnej nervovej sústavy (CNS) je sprevádzané vznikom fibrotickej jazvy, ktorá chráni okolie pred šírením poškodenia ale súčasne bráni rýchlej regenerácii. Kým o morfológických zmenách a zmenách expresie proteínov v neurónoch v mieste poškodenia je pomerne veľa informácií, zmeny neuronálnej excitability neboli doteraz podrobne skúmané.

Metodika: Použili sme in vitro model fibrotickej jazvy, ktorý navrhli a charakterizovali Kimura-Koruda a spoluautori. Táto fibrotická jazva vzniká z ko-kultivovaných astrocytov a fibroblastov vystavených počas 7 dní pôsobeniu TGF- β 1 v koncentrácii 10 ng/ml. Na vzniknutú fibrotickú jazvu sme vysadili hipokampálne neuróny izolované z mozgu potkana 24-48 hodín po narodení. Po 3 dňoch sme merali akčné potenciály (AP) a iónové prúdy metódou „patch clamp“ v konfigurácii „z celej bunky“.

Výsledky: Amplitúda jednotlivých AP bola v hipokampálnych neurónoch na modeli fibrotickej jazvy znížená, ale neuróny boli, na rozdiel od kontrolných neurónov, schopné generovať série AP. Vápnikový prúd nebol zmenený, ale amplitúdy sodíkového prúdu, draslíkového prúdu „A-typu“ a pomaly sa aktivujúceho draslíkového prúdu boli signifikantne zvýšené. Ak boli hipokampálne neuróny kultivované na modeli fibrotickej jazvy v prítomnosti chondroitinázy ABC, ich vlastnosti boli rovnaké ako vlastnosti kontrolných neurónov.

Záver: V podmienkach in vitro modelu fibrotickej jazvy sa zvyšuje excitabilita hipokampálnych neurónov. Ak sa takýto mechanizmus vyskytuje aj pri poškodení CNS in vivo, môže podporovať regeneráciu neurónov v mieste poškodenia.

Práca bola podporená grantom APVV-0212-10.

VYŠETRENIE SATURÁCIE HEMOGLOBÍNU KYSLÍKOM A PERFÚZNEHO INDEXU POMOCOU PULZNÉHO OXYMETRA

Ondrašovičová S.¹, Ondrašovičová J.², Andrejčáková Z.¹, Zigo F.¹, Sopková D.¹

¹Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie; ²Univerzita Pavla Jozefa Šafárika, Košice, Slovenská republika

Úvod: Pulzný oxymeter slúži k neinvazívnemu meraniu saturácie hemoglobínu kyslíkom v arteriálnej časti krvného riečišťa (SpO₂), srdcovej frekvencie (tepovej frekvencie) a perfúzneho indexu (PI). Nízka hodnota saturácie hemoglobínu kyslíkom poukazuje prevažne na pľúcne ochorenia, ako je chronická obštrukčná pľúcna choroba (CHOCHP), pneumónia a astma. Anémia a srdcové choroby môžu tiež spôsobiť hypoxémiu. U človeka s nízkou hodnotou saturácie hemoglobínu kyslíkom sa vo väčšej miere objavujú príznaky ako dýchavičnosť, zvýšenie srdcovej frekvencie, pokles výkonnosti, nervozita a náhle potenie.

Metóda: Saturácia hemoglobínu kyslíkom a perfúzny index bol meraný u 8 zdravých žien (vek od 19-24 rokov) na každom prste obidvoch rúk. Merania sa uskutočnili za sebou pomocou jedného digitálneho pulzného oxymetra (OXY-6, GIMA).

Výsledky: Najvyššia hodnota SpO₂ a PI bola nameraná na prostredníku. Priemerná hodnota SpO₂ bola 98,75 % a PI 4,75 %. Hodnoty SpO₂ neukázali žiadne výrazne rozdiely medzi prstami. Perfúzny index poukázal na významne rozdiely medzi prostredníkom pravej ruky a malíčkom (ANOVA, p<0,01).

Záver: Najvyššie SpO₂ a PI hodnoty na prostredníku sú v dôsledku výdatného vaskulárneho zásobenia ulnárnou a radiálnou artériou.

MATHEMATICAL RELATIONSHIPS OF RAT BLOOD PRESSURE PARAMETERS INFLUENCED BY L-NAME

Ondrias K.¹, Kristek F.², Misak A.¹, Tomasova L.¹, Ondriasova E.³, Grman M.¹

¹*Institute of Clinical and Translational Research, BMC SAS, Bratislava, Slovak Republic,*

²*Institute of Normal and Pathological Physiology SAS, Bratislava, Slovak Republic,*

³*Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy CU, Bratislava, Slovak Republic*

Introduction: The arterial pulse waveform (APW) of blood pressure (BP) gives useful information on all components of cardiovascular system. Goal of our study was to find the relationship between rat APW parameters in conditions of hypertension resulted from decreased NO bioavailability.

Method: Male Wistar rats (300 ± 20 g) were anesthetized with Zoletil 100 and Rometar. The right jugular vein was cannulated for L-NAME (25 mg/kg) administration under anesthesia. The left carotid artery was cannulated for insertion of a fiber-optic pressure transducer Samba Preclin to measure APW. The analog signal was digitalized and analyzed by our developed program in MatLab.

Results: We characterized the time-dependent changes of 14 APW parameters in the condition of gradual decrease of NO bioavailability after administration of L-NAME. We approximated the relationships of 12 APW parameters to systolic and diastolic BP and found that: pulse BP could be approximated by linear line, relative level of dP/dt_{max} as exponential decay, systolic area as exponential growth, relative augmentation index as exponential rise to maximum and increase of relative level dP/dt_{min} as sigmoid function.

Conclusion: The results may contribute to assigning the parameters of the mathematical equations of APW to functions of specific component(s) of cardiovascular system in conditions of decreased NO bioavailability. This may have predictive or diagnostic value.

This work was supported by APVV-15-0371.

PAMĚŤ EPIZODICKÉHO TYPU TESTOVANÁ VE VIRTUÁLNÍ REALITĚ

Oravcová I.¹, Fajnerová I.¹, Hejtmánek L.¹, Plechatá A.¹, Nekovářová T.¹

¹Národní ústav duševního zdraví, Klecany, Česká republika

Úvod: Epizodická paměť je systém, který nám umožňuje zpětně vyvolat vzpomínky na již prožité minulé události. Jde o kognitivní funkci, při které si během procesu vybavování vzpomínky potřebujeme uvědomit tři základní parametry: co se stalo, kdy se to stalo a kde se událost odehrávala. Tyto parametry charakterizují jednoduchý model nazývaný paměť epizodického typu, která je většinou testována u zvířat. V naší studii jsme tenhle model vytvořili v prostředí virtuální reality a následně jsme ho testovali na lidech.

Metodika: Ve dvou rozličných prostředích virtuální reality (ve strukturovaném prostředí rodinného domu vs. nestrukturovaném prostředí otevřené „open space“ kanceláře) jsme vytvořili pět úkolů se stupňující úrovní hry. Cílem hráče (n= 30) bylo posbírat jednotlivé předměty (postupně 3, 5, 7, 9 nebo 11 předmětů) a zapamatovat si jejich pořadí a pozici v prostoru. Následně jej jejich úkolem vybavit si odpověď na otázky „Co?“, „Kdy?“ „Kde?“ a vrátit předměty na stejná místa v stejném pořadí. Sledovali jsme chybovost v pořadí a pozici předmětů a porovnávali jsme oba typy prostředí vzájemně. Dobrovolníci využívali při řešení úkolů různé strategie, které jsme kategorizovali a sledovali jsme, jestli má strategie vliv na úspěšnost řešení úkolů.

Výsledky: Z předběžných výsledků naší studie vyplývá, že časová a prostorová chybovost hráče se zvyšuje s narůstajícím počtem předmětů v obou typech prostředí. Při porovnání množství chyb vzhledem k prostředí, v strukturovaném prostředí domu je množství chyb v pozicích předmětů menší a pořadí předmětů větší. Zatímco v prostředí otevřené kanceláře nenajdeme velký rozdíl mezi jednotlivými chybami. Strategie, které hráči využívali, měla vliv na úspěšnost řešení.

Závěr: Z předběžných výsledků jsme zjistili, že strukturované prostředí je vhodnější pro vyvolání vzpomínky události z minulosti. Na základě kategorizace použitých strategií jsme zjistili, že strategie jakou hráč použije, může částečně ovlivnit jeho úspěšnost. Domníváme se, že popisovaná testová metoda, je vhodná jako model epizodické paměti aplikovatelná pro budoucí klinické studie neuropsychologických nemocí poškozujících epizodickou paměť.

Tato studie byla podpořena projektem číslo LO1611 za finanční podpory MŠMT v rámci programu NPU I a Norského finančního mechanismu a Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy v rámci projektové smlouvy č. MSMT-28477/2014, projekt č. 7F14236.

CLOZAPINE ALTERS FOS EXPRESSION IN SELECTED BRAIN AREAS INDUCED BY A NOVELTY STRESSOR AFTER STRESS PRECONDITIONING

Osacká J.¹, Černácková A.², Horváthová L.¹, Majerčíková Z.¹, Kiss A.¹

¹Laboratory of Neurobiology, Institute of Experimental Endocrinology, Biomedical Research Center, Slovak Academy of Sciences, Bratislava, Slovakia; ²Institute of Physiology, Faculty of Medicine in Bratislava, Comenius University, Slovakia

Introduction: Clozapine (CLZ) is a prototype of atypical antipsychotics stimulating several brain areas, some of which are sensitive also to a stressor challenge. The aim of the present study was to reveal whether 7 day CLZ administration: 1) activate neurons in the selected forebrain and hypothalamic areas; 2) modulate response of these structures to a single forced swimming (FSW) exposure; and 3) modulate response of these structures to FSW, as novel stressor, after 13-day stress preconditioning.

Methods: Six groups of rats were used: a) vehicle or CLZ treated for 7 days; b) vehicle or CLZ treated for 7 days and on the 7th day exposed to FSW for 10 min.; c) stress preconditioned for 13 days, from the 8th day treated with vehicle or CLZ, and on the 14th day exposed FSW. Vehicle (0.1% acetic acid, 100 µl/100 g b. w.) or CLZ (10 mg/kg/day in vehicle) were administered intraperitoneally. The rats were sacrificed 90 min after the FSW. Quantification of Fos profiles was performed in the medial prefrontal cortex (mPFC), dorsolateral (seDL) and ventrolateral (seVL) septum, shell (shACC) and core (coACC) of the nucleus accumbens, dorsolateral (stDL) and dorsomedial (stDM) striatum, and hypothalamic paraventricular nucleus (PVN).

Results: Under physiological conditions, CLZ increased Fos immunoreactivity in the mPFC, seVL, stDL, and PVN. In animals exposed to a single FSW, CLZ suppressed the Fos immunoreactivity in the coAAC and shAAC, seDL, seVL, and stDM. In the stress preconditioned rats, CLZ decreased the number of Fos-immunopositive cells after FSW only in the PVN.

Conclusion: Our data indicate that CLZ elicits different impact on the neuronal activities in the studied brain areas involved in the stress response, whereas the effect might be modifiable by the stressor duration.

The research was supported by VEGA (2/0031/12) an APVV-15-0037.

ÚLOHA AUTONÓMNEJ NEUROTRANSMISIE V MODULÁCIÍ NEUROZÁPALU POČAS NÁDOROVÉHO RASTU

Padová A.^{1,2}, Horváthová E.¹, Tillinger A.¹, Mravec B.^{1,2}

¹Ústav experimentálnej endokrinológie, BMC, SAV, Bratislava, Slovenská republika;

²Fyziologický ústav, LF UK, Bratislava, Slovenská republika

Úvod: Výskum vplyvu nervového systému na nádorový rast preukázal vzájomnú komunikáciu medzi autonómnym nervovým systémom a nádorom vyvíjajúcim sa na periférii. Na modeli melanómu u myši sme preto skúmali efekt chemického vyradenia vplyvu sympatikovej inervácie na aktivačné a zápalové markery v nucleus paraventricularis hypothalami (PVN) a v mozgovom kmeni (nucleus tractus solitarii – NTS, nucleus parabrachialis – PBN, locus coeruleus – LC, area postrema – AP, A1/C1 neuróny predĺženej miechy – A1/C1) počas experimentálne indukovaného nádorového ochorenia.

Metodika: U laboratórnym myši kmeňa C57BL/6J (chov ÚEE, BMC, SAV) bola uskutočnená chemická sympatektómia i.p. podaním 6-hydroxydopamínu (100mg/kg hmotnosti zvierat'a), ktorý sa aplikoval dva po sebe nasledujúce dni. O 6 dní neskôr boli zvieratám s.c. podané melanómové bunky B16-F10 (poskytnuté RNDr. Jozefom Bizikom, DrSc., ÚEO, BMC, SAV). Dekapitácie a odbery tkanív prebehli na 20. deň po aplikácii nádorových buniek. Mozgové oblasti sme izolovali mikroizolačnou technikou („punching“). Génovú expresiu zápalových markerov sme určili pomocou Real-Time PCR a výsledky sme spracovali $\Delta\Delta$ Ct metódou. Rozdiely v génovej expresii vybraných génov v mozgových oblastiach medzi jednotlivými skupinami boli vyhodnotené dvojfaktorovou ANOVA, kde prvým faktorom bola prítomnosť nádoru a druhým faktorom podaná látka (6-hydroxydopamín), následne sme použili Bonferroniho post hoc test.

Výsledky: U zvierat s vyvinutým melanómom sme zaznamenali zmeny v génovej expresii zápalových markerov. V NTS a A1/C1 prítomnosť nádoru stimulovala expresiu Aif1 a GFAP. Navyše v NTS, A1/C1, ako aj v AP, PBN a PVN nádor indukoval aj zvýšenie expresie IL-1 β . AP bola jediná zo sledovaných oblastí, kde vplyvom nádoru došlo k zníženiu expresie mRNA pre GFAP. Chemická sympatektómia indukovala zvýšenie mRNA zápalových markerov Aif1 a GFAP v cirkumventrikulárnom orgáne AP a zvýšenie expresie IL-1 β mRNA v PVN.

Záver: Naše výsledky poukazujú na zvýšenie génovej expresie zápalových markerov v mozgu zvierat s melanómom. Vyradenie sympatikových nervov malo za následok potenciáciu pozorovaných zmien v regulačných centrách autonómnych funkcií organizmu – PVN a AP. Uvedené nálezy naznačujú, že periférne zložky sympatikového systému ovplyvňujú nádorom-indukované zápalové zmeny v mozgu.

Práca bola podporená grantom VEGA: č. 2/0028/16.

KRITIKA MITOCHONDRIÁLNO-RADIKÁLOVEJ TEÓRIE STARNUTIA

Peregrin I.

Ústav lekárskej fyziológie, LF UPJŠ, Košice, Slovenská republika

Úvod: Mitochondriálno-radikálová teória starnutia (Mitochondrial Oxidative Stress Theory of Aging, MOSTA) navrhnutá koncom 70-tych rokov vidí hlavnú príčinu starnutia v reaktívnych formách kyslíka a za ich hlavné miesto vzniku ako aj negatívneho pôsobenia pokladá mitochondrie. Spolu s evolučnou teóriou Thomasa Kirkwooda (Disposable Soma Theory of Aging, navrhnutá roku 1977), ktorá dáva MOSTA „evolučné zdôvodnenie“, vytvárajú hlavný prúd predstavy o mechanizme starnutia. Výskum posledných 10-tich rokov však na toto ich spoločné vysvetlenie vrhol veľkú mieru pochybností.

Diskusia: Bolo spochybnené, že by mitochondrie boli miestom s najvyššou koncentráciou reaktívnych foriem kyslíka. Čo je dôležitejšie, prejavy poškodenia mitochondrií v bunkách nezodpovedajú predstave MOSTA: Aj keď bol pozorovaný 11-násobný vzostup bodových mutácií v mitochondriách v súvislosti s vekom, myši mitochondriálni mutanti sú schopní zvládnuť 500-násobný nárast týchto mutácií bez akýchkoľvek znakov urýchleného starnutia. Čo je ešte dôležitejšie, štúdie s transgennými hlodavcami produkujúcimi vyššie množstvá antioxidantných enzýmov nezistili pozitívny vplyv nižšieho oxidačného stresu na dĺžku života (štúdie vykonávané za optimálnych nestresových podmienok). Podobne tiež viacerí myši mutanti s knock-outovaným génom pre antioxidantné enzýmy vykazujú normálnu dĺžku života (napr. Cu/Zn-superoxid dismutáza^{+/-}, Mn-superoxid dismutáza^{+/-}, glutathion-peroxidáza 1^{-/-}, methionin sulfoxid reductáza A^{-/-}), pokiaľ sú štúdie vykonávané za nestresových podmienok. Je navyše zaujímavé, že glutathion-peroxidáza 4^{+/-}-myši vykazujú napriek vyššiemu oxidačnému stresu mierne dlhšiu (7%), avšak významnú, priemernú dĺžku života oproti kontrolám. U najdlhšie žijúcich hlodavcov *Heterocephalus glaber* (maximálna dĺžka života = 31 rokov) bola zistená aktivita bunkovej glutathion-peroxidázy 70-krát nižšia než u myši *Mus musculus* (maximálna dĺžka života = 4 roky). Nezistil sa taktiež pozitívny vplyv podávania antioxidantných látok na dĺžku života, dokonca v niektorých prípadoch má ich zvýšený príjem skôr negatívne dôsledky (β-karotén, vit. A, vit. E).

Záver: Mnohé štúdie za posledných 10 rokov spochybňujú nie len MOSTA, ale dokonca aj samotnú všeobecnú radikálovú teóriu starnutia (Free Radical Theory of Aging, FRTA) navrhnutú ešte Harmanom v 50-tych rokoch. Dominuje názor, že je potrebné revidovať MOSTA, či dokonca aj samotnú FRTA.

THE EFFECT OF DIETARY SUPPLEMENTATION WITH DIFFERENT MANGANESE SOURCES ON OXIDATIVE STRESS IN LAMBS

Piešová E.¹, Grešáková L.², Venglovská K.², Čobanová K.², Faixová Z.¹, Tarabová L.¹, Maková Z.¹

¹*University of Veterinary Medicine and Pharmacy, Department of Pathological Anatomy and Pathological Physiology, Komenského 73, 040 01 Košice, Slovak Republic*

²*Institute of Animal Physiology, Slovak Academy of Sciences, Šoltésovej 4-6, 040 01 Košice, Slovak Republic*

Manganese (Mn) plays an important role in cell protection against oxidative damage. The effect of supplementation of diets for lambs with two Mn sources on oxidative status was evaluated in 18 lambs. The lambs of improved Valachian breed (7 months old) were fed either a control diet (31 mg Mn/kg of diet) or experimental diets that contained either MnSO₄ or Glycinoplex with a total Mn content up to 150 mg/kg. After the 112-d feeding period were fresh blood samples used for the determination of reactive oxygen metabolites (d-ROMs) and biological antioxidant potential (BAP). ROMs and BAP were determined by commercial kits by a device the FRAS4. The results of the d-ROMs test were expressed in arbitrary units called Carrateli units (U.Carr); the results of the BAP test are expressed in μmol/l of reduced iron. The degree of oxidative stress was estimated by the ratio of ROMs/BAP (U.Carr / μmol/l x 100 = oxidative stress index, OSI), given that the relationship between the level of oxidative stress and pathology is higher when ROMs and BAP measurements are so combined. A significant increase was found in the BAP test in lambs fed the diet enriched with organic Mn source compared with control group (P<0.05). Similarly, organic source of Mn positively has affected OSI (P<0.05). In conclusion, our results suggest that supplementation of feed with organic source of Mn improved the antioxidant status of lambs.

This work was supported by the Slovak Research and Development Agency under contract No. APVV-0667-12, by the Slovak Grant Agency VEGA, No. 2/0045/12 and No. 1/0374/14.

VPLYV MELATONÍNU NA NEURONÁLNE A BEHAVIORÁLNE ZMENY U POTKANOV PO OŽIARENÍ

Pipová N., Kisková T., Vilhanová K., Nyisztorová G., Štafuriková, A., Šmajda B.

Prírodovedecká fakulta UPJŠ v Košiciach, Ústav biologických a ekologických vied, Katedra fyziológie živočíchov, Košice, Slovenská republika

Melatonín, “hormón tmy“, hrá dôležitú úlohu v celom rade fyziologických funkcií. Cieľom našej práce bolo skúmať účinky exogénneho melatonínu, ako antioxidantu, na tvorbu nových, prežívajúcich zrelých neurónov a na behaviorálne zmeny u prenatálne ožiarených potkanov rôzneho veku.

Gravidné samice kmeňa Wistar boli ožiarené dávkou 1 Gy gamma-lúčov v období citlivom pre vývin mozgu plodu (17. deň gravidity). Ich potomstvo bolo rozdelené do skupín ožiarených (IR) a melatonínom liečených zvierat (IR+Mel). Potomstvo zdanlivo ožiarených matiek tvorilo skupinu kontrol (C) a skupinu, ktorej bol podávaný melatonín (Mel). Potkany boli vyšetřované vo veku 3 týždňov (3t, n=25) a 2 mesiacov (2m, n=37). Melatonín bol podávaný v pitnej vode (20 mg/l) denne v tmavej fáze dňa skupine 3t zvierat sedem dní a skupine 2m zvierat jeden mesiac. Pomocou imunohistochemických metód bola stanovená úroveň proliferácie buniek (BrdU+) v subgranulárnej zóne (SGZ) a v hiluse hipokampu a tiež početnosť zrelých neurónov (NeuN+, u 2m zvierat) v granulárnej bunkovej vrstve (GCL), v zóne CA1 pyramidálnej vrstvy a v hiluse hipokampu. Kognitívne schopnosti 2m zvierat boli testované pomocou Morrisovho vodného bazénu, úzkostné a exploračné správanie pomocou vyvýšeného krížového labyrintu.

Ionizujúce žiarenie výrazne potlačilo bunkovú proliferáciu a počet zrelých neurónov vo vyšetřovaných oblastiach mozgu. Chronicky podávaný melatonín výrazne zvýšil počet BrdU+ buniek v skupine IR+Mel oproti skupine IR v hiluse 3t ($P < 0,001$) a 2m ($P < 0,05$) zvierat. Signifikantne oproti skupine IR bol zvýšený aj počet NeuN+ buniek v skupine IR+Mel v CA1 oblasti 2m zvierat ($P < 0,001$), čím sa dostal na úroveň kontrolnej skupiny. IR+Mel skupina 2m zvierat dosahovala tiež signifikantne lepšie ($P < 0,05$) výsledky v testovaní dlhodobej pamäte v porovnaní so skupinou IR. Úzkostné prejavy však boli významne zvýšené oproti C práve v skupine Mel ($P < 0,05$). Exploračné správanie nebolo ovplyvnené.

Naše výsledky naznačujú, že podávanie melatonínu má pozitívny účinok na bunkovú proliferáciu a na prežívajúcich zrelých neurónov v CA1 oblasti hipokampu po ožiarení. Poukazujú na to aj lepšie výsledky zvierat pri testovaní ich kognitívnych schopností.

Práca bola podporená grantom No. 1/0292/12.

DLHODOBÝ ÚČINOK MIKROVLNNÉHO ŽIARENIA NA POSTNATÁLNU NEUROGENÉZU U POTKANA: MORFOLOGICKÁ A BEHAVIORÁLNA ŠTÚDIA

Raček A.¹, Martončíková M.², Arnoulová P.², Angelidis A.², Cigánková V.¹

¹Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach; ²Neurobiologický ústav SAV, Košice, Slovenská republika

Postnatálna tvorba neurónov v mozgu je riadená nielen širokou škálou fyziologických faktorov, ale môže byť ovplyvnená aj environmentálnymi faktormi. V predchádzajúcich experimentoch sme zistili, že vystavenie dospelých potkanov mikrovlnnému žiareniu má za následok výrazné morfológické zmeny v neurogénnej oblasti čuchového systému. V tejto práci sme sa zamerali na sledovanie dlhodobého účinku žiarenia na proliferáciu a odumieranie neuroblastov v spomínanej neurogénnej oblasti, v rostrálnej migračnej dráhe (RMS) potkana v korelácii so sledovaním možných zmien v správaní zvierat. Neonatálne potkany vo veku dvoch týždňov boli vystavené mikrovlnnému žiareniu spôsobeného pulznými elektromagnetickými poľami o frekvencii 2,45 GHz, priemernej silovej hustoty 2,8 mW/cm² denne na tri hodiny počas troch týždňov. Kontrolné potkany boli chované v rovnakých podmienkach ako experimentálne, avšak bez vystavenia žiareniu. Po ukončení ožarovania sme zvieratá nechali prežívať do dospelosti, kedy sme ich podrobili behaviorálnemu testovaniu pomocou testu úzkosti. Po ukončení testovania sme mozgy zvierat spracovali histologicky. Proliferačnú aktivitu sme zisťovali pomocou markera proliferácie Ki-67 a na značenie odumierajúcich buniek sme použili histochemickú metódu Fluoro-Jade C. Počet proliferujúcich a odumierajúcich buniek sme hodnotili počítačovou obrazovou analýzou a výsledky boli štatisticky vyhodnotené pomocou ANOVA a Tukey-Kramer testu. Z výsledkov behaviorálneho testovania bolo zjavné, že vystavenie mikrovlnnému žiareniu zvyšuje mieru úzkosti u dospelých jedincov. Kvantitatívna analýza buniek v RMS ukázala nesignifikantné zníženie počtu proliferujúcich buniek v porovnaní s rovnako starými kontrolnými zvieratami. Dlhodobý efekt mikrovlnného žiarenia sa najvýraznejšie prejavil na odumieraní buniek v RMS. Počet odumierajúcich buniek u ožarovaných potkanov bol výrazne vyšší ako u intaktných zvierat, čo naznačuje, že žiarenie skôr ovplyvňuje prežívanie buniek ako ich proliferáciu. Naše výsledky ukazujú, že mikrovlnné žiarenie, ktorému sú zvieratá vystavené v skorom postnatálnom období má na neurogenézu negatívny vplyv, ktorý pretrváva až do dospelosti a je v korelácii so zmenami v správaní zvierat.

Podporené grantmi VEGA: 1/0214/15; 2/0069/15; 2/0159/17

VPLYV KAROTENOIDOV NA VYBRANÉ CHARAKTERISTIKY ERYTROCYTOV U ZDRAVÝCH POTKANOV A U POTKANOV VYSTAVENÝCH PODANIU LPS

Radošinská J.^{1,2}, Mézešová L.², Okruhlicová L.², Frimmel K.², Breierová E.³, Barteková M^{1,2}, Vrbjar N.²

¹Fyziologický ústav, Lekárska fakulta Univerzity Komenského; ²Ústav pre výskum srdca SAV;

³Chemický ústav SAV, Bratislava, Slovenská republika

Úvod: Práca je zameraná na vplyv jednorazovo podaného LPS (1 mg/kg) na deformabilitu erytrocytov, ako aj na vybrané parametre, ktoré tento parameter ovplyvňujú. Súčasne sa sledoval možný protektívny vplyv podávania karotenoidov v dávke 10 mg/kg/deň.

Metodika: Experimenty sa uskutočnili na 3-mesačných potkanoch kmeňa Wistar. Časť potkanov dostávala počas 10 dní od aplikácie LPS biomasu kvasiniek s vysokým obsahom karotenoidov. Na konci pokusu sa odoberala krv na stanovenie deformability erytrocytov prostredníctvom merania ich filtrability. Využitím DAF-fluorescencie sa zaznamenala produkcia NO v erytrocytoch a kinetickými meraniami sa stanovila aktivita erytrocytarnej Na,K-ATPázy.

Výsledky: Podanie LPS malo negatívny vplyv na erytrocyty v zmysle poklesu ich deformability o 14% a zníženia produkcie NO o 20%. Karotenoidy zmiernili toto poškodenie, čo bolo pozorované na 22% zvýšení deformability erytrocytov a 23% zvýšení aktivity NO syntázy. Aktivita Na,K-ATPázy bola zlepšená pravdepodobne v dôsledku zvýšenia počtu aktívnych molekúl enzýmu, na čo poukazuje 66% zvýšenie hodnoty V_{max}.

Záver: Erytrocyty potkanov vystavených účinkom LPS profitovali z podania karotenoidov, čo je dokumentované na ich zlepšenej schopnosti prechádzať aj najmenšími kapilármi ľudského tela, zvýšenou produkciou NO a vylepšením intracelulárnej homeostázy sodíka.

Práca bola podporená grantom VEGA 1/0032/14, 2/0022/16 a 2/0141/13.

NOVEL ALTERNATIVE APPROACHES TO REDUCE A RISK OF HEART FAILURE

Ravingerová T.¹, Farkašová V.¹, Muráriková M.¹, Griecsová L.¹, Lonek L.¹, Adameová A.², Neckář J.³, Hrdlička J.³, Kolář F.³

¹*Institute for Heart Research, Slovak Academy of Sciences;* ²*Faculty of Pharmacy, Comenius University, Bratislava, Slovak Republic;* ³*Institute of Physiology, Academy of Sciences of the CR, Prague, Czech Republic*

Background: Despite the progress in pharmacotherapy, interventional cardiology (PPCI) and cardiac surgery of acute myocardial infarction (AMI), gradual post-AMI progression of myocardial dysfunction leads to heart failure (HF). Its increasing incidence represents a serious danger especially in the elder population challenged with further comorbidities, the prognosis being more unfavourable in females. Pathophysiological mechanisms of HF are complex and involving processes such as hemodynamic overload, ischemia, fibrosis, inflammation, ventricular remodelling, neurohumoral disbalance, altered gene expression and Ca²⁺ cycling, oxidative stress, acceleration of apoptosis and mitochondrial dysfunction that subsequently leads to progressive decline of heart function and increased morbidity and mortality.

Objectives: Currently, neither effective prevention of AMI nor ultimate reduction of ischemia/reperfusion (I/R) injury is available, therefore, there is an urgent need to search for alternative approaches based on the experimental findings. Ischemic preconditioning (PC) is a most robust form of innate cardioprotection based on the adaptation of the heart to I/R, which translation to clinical practice has been relatively successful albeit limited by technical requirements and short-term duration. Nevertheless, novel forms of adaptive interventions such as „remote“ PC (RPC), adaptation to hypoxia or exercise appear as promising beneficial approaches. Some of them, e.g., RPC, have been already used in clinical conditions in patients with AMI, PPCI, congenital defects and bypass surgery.

Methods: RPC interventions include inflation (200 mmHg)/deflation of a pressure cuff placed on a limb and may be realized in three 5-min cycles prior to the onset of ischemia, during ischemia or post-I/R. In animal experiments, short-time adaptation by a single cycle of RPC showed increased effectivity when applied repeatedly for a longer time, e.g., over a 4-week period, and this approach may suppress HF development in different pathological states. Further adaptive interventions include short-term or repeated (4 weeks) exposure of animals to hypoxia (O₂ 10%) in hypoxic chamber or free running in the running wheel (4 weeks).

Results: Cardiac resistance to I/R injury including lethal changes (size of infarction, severe arrhythmias) and myocardial dysfunction, as well as the efficiency of the heart's own endogenous protective mechanisms is to a major extent affected by the presence of further comorbidities (hypertension, hyperlipidemia), aging and is related to gender. Experiments with RPC and long-term exercise demonstrated that these forms of adaptation led to the post-I/R preservation of heart function, anti-infarct protection and up-regulation of metabolic genes regulating myocardial energy production and pro-survival cell signaling resulting in anti-oxidative and anti-apoptotic processes in the myocardium of the healthy adult animals but also in those with hypertension or aging.

Conclusions: Activation of innate adaptive mechanisms of the heart might represent a promising therapeutic strategy under conditions of chronic heart ailments. These approaches may increase the arsenal of non-invasive adaptive interventions being potentially implemented in human medicine, and lead to optimization of HF management and preventing the rise in its incidence, especially in elder generation.

Supported by grants VEGA SR 1/0271/16, 2/0201/15, 2/0133/15, 2/0151/17, APVV-0102-11, APVV-15-0119, APVV-15-0607, MAD-15-17.

VPLYV OXYTOCÍNOVÉHO RECEPTORA NA EXPRESIU MALÝCH GTPÁZ V SH-SY5Y BUNKÁCH

Reichová A.¹, Zaťková M.^{1,2}, Bačová, Z.^{1,3}, Bakoš J.^{1,3}

¹Ústav experimentálnej experimentálnej endokrinológie, Biomedicínske centrum, SAV, Bratislava, ²Fyziologický ústav, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava, ³Ústav patologickej fyziológie LF, SZU, Bratislava, Slovenská republika

Úvod: Rast neuritov je subcelulárne regulovaný prostredníctvom zmeny množstva a aktivity GTPáz. Mnohé GTPázy ovplyvňujú cytoskeletové a skafoldové proteíny a významne sa podieľajú na vnútrobunkových procesoch potrebných pre vezikulárny a membránový transport. V našich predchádzajúcich prácach sme preukázali, že GTPáza Cdc42 má v neuronálnych bunkách vzťah k aktivácii oxytocínového receptora a súčasne hladina Cdc42 môže byť zmenená u ľudí s neurovývinovými ochoreniami. Porucha v oxytocínovom receptore, respektíve v jeho signalizácii sa predpokladá u niektorých vývinových ochorení, je preto dôležité objasniť jeho úlohy vo vzťahu k zmenám expresie a aktivity niektorých GTPáz.

Metodika: Prostredníctvom qPCR bol v predkladanej štúdiu hodnotený vplyv 48-hodinovej inkubácie neuroblastómových SH-SY5Y buniek v prítomnosti 1 μ M oxytocínu, oxytocínového antagonistu (L-371-257) a ich kombinácie na hladiny GTPáz (RhoA, RhoB, Rac1, Cdc42) a kináz regulujúcich polymerizáciu aktínu (TIAM1, LIMK1).

Výsledky: Oxytocín signifikantne zvýšil mRNA hladiny pre RhoB, N-WASP, TIAM1 a LIMK1. Žiadny vplyv oxytocínu nebol pozorovaný pre génovú expresiu RhoA a Rac1. Podanie inhibítora oxytocínových receptorov zablokovalo vzostup mRNA pre N-WASP, TIAM1, LIMK1.

Záver: Oxytocínový receptor môže v regulácii signálnej dráhy sprostredkovanej N-WASP a príbuzných proteínov zohrávať dôležitú úlohu. Proteínové hladiny a aktivitu jednotlivých enzýmov je potrebné ešte overiť, ale naše predbežné výsledky vedú k záveru, že oxytocínový receptor je dôležitý pre zmeny dynamiky cytoskeletu prinajmenšom v niektorých neuronálnych bunkách.

Práca bola podporená grantami: APVV-15-0205, VEGA 2/0119/15 a VEGA 2/0016/16

SESAME OIL INCREASES NITRIC OXIDE PRODUCTION IN THE HEART OF OBESE ZUCKER RATS

Reháková R., Cebová M., Košútová M., Matúšková Z., Pecháňová O.

Institute of Normal and Pathological Physiology, Slovak Academy of Sciences, Bratislava, Slovak Republic

Background: Recently, several published reports documented antioxidant, anti-inflammatory and anti-hypertensive activities of sesame oil (SO). SO may induce activation of endothelial NO-synthase (eNOS) and lead to increased production of NO resulting in protection of the heart from heart diseases. Thus, the present study was aimed to investigate effects of SO in lean and fatty Zucker rats and to determine NO generation particularly.

Methods: In this study, 12-week-old Zucker lean and Zucker fa/fa rats were used (n=12 in each group). Six Zucker lean and six Zucker fa/fa rats were taken as controls, whereas the remaining rats were administrated SO by oral gavage during 6 weeks of treatment. Blood pressure (BP) was measured by tail-cuff plethysmography. Samples of the heart were collected and analysed for NOS activity and protein expression of eNOS and iNOS. Plasma parameters were analysed as well.

Results and Conclusions: SO treatment did not change BP, relative heart weight and body weight within the groups. SO had no significant effect on cardiac NOS activity in Zucker lean, however, it increased NOS activity in Zucker fa/fa rats. According to Western blot analysis, eNOS and iNOS expressions did not show up-regulation in both eNOS and iNOS proteins. Furthermore, SO treatment increased plasmatic concentration of calcium and magnesium in Zucker fa/fa rats. Thus, it seems that SO could have direct activation effect on cardiac NOS activity. The calcium- and magnesium-induced NOS activation may significantly contribute to the total NOS activity elevation. We have suggested that SO could represent an effective nonpharmacological supplement for regulating NO production in cardiovascular disease.

Supported by grants APVV-14-0932 and Grant of Slovak Society of Cardiology.

OXIDAČNÉ A ZÁPALOVÉ ZMENY SRDCA A PEČENE PRI EXPERIMENTÁLNO M AKÚTNOM POŠKODENÍ PĽÚC

Rezáková S.¹, Mikolka P.², Košútová P.¹, Čalkovská A.^{1,2}, Mokrá D.^{1,2}

¹Ústav fyziológie, ² Martinské centrum pre biomedicínu (BioMed), Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave, Martin, Slovenská republika

Úvod: Akútne poškodenie pľúc (ALI) je charakterizované zvýšenou priepustnosťou alveolo-kapilárnej membrány, edémom, neutrofilovým zápalom, dysfunkciou pľúcneho surfaktantu a difúznym alveolárnym poškodením, čo vedie k hypoxémii. Nakoľko pri ALI môže dôjsť aj k poškodeniu iných orgánov, v našej štúdií sme sa zamerali na priamy vplyv experimentálneho aseptického ALI na zmeny srdca a pečene na základe hodnotenia markerov zápalu, oxidačného a vaskulárneho poškodenia.

Metodika: U novozélandských králikov sme vyvolali 2 modely respiračného zlyhávania: pomocou *i.t.* instilácie mekónia (4 ml/kg, 25 mg/ml; Mec-ALI) alebo opakovanými lavážami pľúc fyziologickým roztokom (30 ml/kg, 6-12 krát; Lav-ALI). Zvieratá boli po vytvorení modelu ventilované 5 h kyslíkom (Ti 50%; VT<6 ml/kg). Jedna skupina zvierat slúžila ako zdravá kontrola (C). Po usmrtení zvieratá boli z tkaniva srdca a pečene pripravené homogenáty, v ktorých sme pomocou ELISA metódy stanovili oxidačné poškodenie lipidov (TBARS) a proteínov (3NT), vaskulárne poškodenie (RAGE) a pro-zápalový TNF- α . Skupiny Mec-ALI vs C a Lav-ALI vs C boli porovnávané Kruskal-Wallisovým testom.

Výsledky:

Štatistická signifikancia pre Mec-ALI vs C a Lav-ALI vs C: * $p<0,5$; ** $p<0,01$.

	TBARS		3NT		RAGE		TNF- α	
	Srdce	Pečeň	Srdce	Pečeň	Srdce	Pečeň	Srdce	Pečeň
C	13,1 \pm 0,7	6,47 \pm 0,6	96,7 \pm 16	126,0 \pm 31,7	14,2 \pm 2,3	58,8 \pm 10,3	28,5 \pm 4,5	6,3 \pm 1,2
Mec-ALI	16,7\pm0,9*	8,2\pm0,3*	278,6\pm53,6*	382,7 \pm 54,1	62,6\pm18,5**	94,7 \pm 11,9	59,8\pm10,2*	54,0\pm16*
Lav-ALI	15,6 \pm 0,4	7,7 \pm 0,83	332,6\pm54,5*	407,1\pm129,1*	20,6 \pm 0,8	84,7 \pm 4	92,7 \pm 21,3	54,6\pm8,5**

Záver: Akútne poškodenie pľúc môže mať okrem lokálneho aj výrazný systémový vplyv. Zvýšené hladiny TBARS, 3NT, RAGE a TNF- α v tkanivách srdca a pečene poukazujú na významné poškodenie extrapulmonálnych orgánov pri experimentálnom aseptickom ALI.

Práca bola podporená projektami: VEGA 1/0305/14, APVV-15-0075, APVV-0435-11, UK/80/2016 a BioMed (ITMS 26220220187).

SHARED ACTIVATIONS OF SENSORIMOTOR CORTEX

Riečanský I.

Laboratory of Cognitive Neuroscience, Institute of Normal and Pathological Physiology, Slovak Academy of Science, Bratislava, Slovakia and (2) Social, Cognitive and Affective Neuroscience Unit, Department of Basic Psychological Research and Research Methods, Faculty of Psychology, University of Vienna, Austria

Mu (7–12 Hz) and beta (13–30 Hz) rhythms are spontaneous rhythmic oscillations that can be recorded over sensorimotor cortex using EEG. Mu and beta oscillations decrease during somatosensory stimulation, before and during the execution of movements, but also when individuals merely observe somatosensory stimulation or movements of other people. It is increasingly acknowledged that sensorimotor functions provide us not only with a basic ability to interact with the environment, but also fundamentally support social cognitive capacities such as recognition and understanding of feelings and actions of other people.

EFFECT OF THE DASH DIET AND KARDISAL® SALT ON BLOOD PRESSURE IN ADOLESCENTS WITH PREHYPERTENSION- (INTERVENTIONAL STUDY)

Rokyta R.¹, Velemínský M.², Šuláková T.², Procházka B.³, Eliášek J.³, Stranský P.⁴, Pučelík J.⁵, Janda J.³

¹Charles University, Third Faculty of Medicine, Prague, ²University of Southern Bohemia, České Budějovice, ³Charles University, Second Faculty of Medicine, Prague, ⁴Charles University, Faculty of Medicine, Hradec Králové, ⁵Program Projekt, Plzeň

Introduction: The aim of this study was to find out if the DASH diet and DASH diet combined with use the salt with limited content of sodium may influence the blood pressure (BP) in adolescents with prehypertension, i.e. a BP ranged between 90 - 95 percentile of normal values (originally nomenclature “high normal blood pressure”).

Methods: Criteria of probands recruitment: ages 13 - 19 years, normal body weight (BMI < 25 kg/m²), prehypertension, informed consent on DASH and use of special Kardisal® and agreement to cooperate with the given protocol. The families have been provided with a written instructions on the DASH- diet practice and use of Kardisal® in home cooking. Altogether 60 probands have been included in the study. Exclusion criteria: previous BP altering drugs, a prior any diet to manage BP, no eating disorders. Group A: 30 probands – 3 months on (DASH diet plus special salt use at home cooking). Group B: 30 probands – 3 months on DASH- diet only.

Results: Group A (DASH diet plus Kardisal®), n = 26: the systolic blood pressure, SBP (median) decreased significantly during the next control measurement (median) from 138 mmHg to 129 mmHg at the last control ($p < 0.001$), the diastolic blood pressure, DBP showed a mild decreased, but the difference was not significant. Group B (DASH diet only), n = 25: the SBP (median) decreased significantly during the next control measurement (median) from 135 mmHg to 132 mmHg at the last control ($p < 0.001$), the diastolic DBP showed a significant decrease from 85 to 79 mmHg as well ($p < 0.001$).

Conclusions: Interventional prospective study using the DASH- and special salt with reduction of NaCl provided after 3 months significant decrease of blood pressure in adolescents with prehypertension. These results may support the active approach the individuals with prehypertension starting the treatment as a non-pharmacological intervention. So, despite a relatively short period of DASH diet this intervention revealed a significant decrease of blood pressure in prehypertensive adolescents individuals. The additional use of salt with limited sodium content a home cooking did not reveal better effect than DASH diet alone.

Acknowledgement Supported by Prvouk P34.

CHARACTERIZATION OF MUTANTS IN THE FIRST TRANSMEMBRANE DOMAIN OF PURINERGIC P2X7 RECEPTOR THAT CONTROL CHANNEL CONDUCTIVITY

Rupert M.^{1,2}, Bhattacharya A.¹, Janouskova H.¹, Zemkova H.¹

¹*Institute of Physiology CAS;* ²*Charles University in Prague, 1. Faculty of Medicine, Prague, Czech Republic*

Introduction: Purinergic P2X receptors (P2X1-7) are ATP-activated cation channels that are composed of two transmembrane domains (TM1 and TM2), a ligand-binding ectodomain, and intracellular N- and C-termini. The P2X7 receptor (P2X7R) is involved in neurodegeneration, neuropathic pain, release of inflammatory cytokines and is strongly deregulated in many tumors. In the prolonged presence of agonist, the opening of P2X7R channel is followed by pore dilatation and receptor sensitization, which causes an increase in its permeability to larger organic cations. To explore the molecular mechanisms by which the large pore is generated, we analyzed the electrophysiological properties and Ethidium bromide (EtBr) uptake of alanine mutants in TM1 of the rat P2X7R.

Methods: We substituted one by one all (22) residues in TM1 (from G27 to D48) of the rat P2X7 receptor with alanine and expressed wild type (WT) and alanine mutants in HEK293 cells. After stimulation with receptor-specific agonist, we measured BzATP-induced membrane current from single cells using patch clamp recordings in a whole-cell configuration. Cellular accumulation of fluorescent dye and BzATP-stimulated changes in fluorescence EtBr (20 μ M) was measured using an epifluorescent microscope.

Results: Eight substitutions (G27A, K30A, H34A, F43A, Y40A, L45A, M46A and D48A) forms receptors, that exhibited significantly decreased initial current amplitude and dye uptake ability. Molecular modeling revealed that most of these residues (G27, K30, H34, L45 and M46) line one wall of TM1 helix oriented outside from the pore.

Conclusions: These results indicate that TM1 might be involved in interaction with another transmembrane molecule possibly important for P2X7 receptor pore formation. The results also disclosed dangerous mutants that, if present, might significantly influence human health.

This work was supported by the Ministry of Education, Youth and Sports of CR within the LQ1604 National Sustainability Program II (Project BIOCEV-FAR) and by the project „BIOCEV“ (CZ.1.05/1.1.00/02.0109)

SLEDOVANIE HĽBKOVEJ TKANIVOVEJ OXYGENÁCIE MOZGU U PREDČASNE NARODENÝCH NOVORODENCOV POMOCOU NIRS (NEAR- INFRARED SPECTROSCOPY) POČAS TRANSFÚZIE ERYTROCYTOV

Rusnáková S.¹, Beňačka R.², Krcho P.²

¹ Ústav patologickej fyziológie, Lekárska fakulta, UPJŠ, ² Klinika neonatológie, LF a DFN, Košice, Slovenská republika

Vzhľadom na nezrelý hemopoetický systém a potrebu častej realizácie odberov krvi sú predčasne narodení novorodenci vo vysokom riziku vzniku anémie. Preto až 90 % novorodencov s extrémne nízkou pôrodnou hmotnosťou vyžaduje podanie transfúzie erytrocytarnej masy. Riziko a benefit podania transfúzie ostáva nejasné a aj napriek liberálnej a reštriktívnej stratégii, manažment podávania transfúzií je protichodný. Použitie neinvazívnych metód, ako je napríklad spektrofotometria blízko infračerveného spektra (NIRS) u predčasne narodených detí preukázala, že transfúzie erytrocytov zlepšujú mozgové okysličenie a uľahčujú identifikáciu novorodencov s anemickou hypoxiou.

Monitorovanie cerebrálnej oxygenácie bolo realizované pomocou O3 Regional Oximetra (Masimo) využívajúceho technológiu NIRS. Sonda vysielajúca a prijímajúca signál vlnovej dĺžky spektra NIRS bola umiestnená na frontotemporálnu oblasť hlavičky novorodenca a následne fixovaná jemným sieťovým obvazom, pre zabránenie vzniku pohybových artefaktov. Hĺbková tkanivová oxygenácia bola meraná a následne analyzovaná u 15 predčasne narodených novorodencov v preddefinovaných časových intervaloch, pred, počas a po podaní transfúzie. Merané a zaznamenávané parametre boli regionálna mozgová saturácia (rSO₂), periférna saturácia (SaO₂), následne vypočítaný parameter frakčná extrakcia kyslíka tkanivom [FTOE = (SaO₂ - rSO₂)/SaO₂].

V priebehu monitorovania dochádza počas transfúzie erytrocytarnej masy k vzostupu mozgovej saturácie a k poklesu frakčnej extrakcie kyslíka tkanivom, čo poukazuje na zníženú spotrebu kyslíka tkanivom. Tieto pozorované zmeny nastali u novorodencov, u ktorých bola regionálna mozgová saturácia pred podaním transfúzie < 55%, čo poukazuje na vývoj anemickej hypoxie mozgu v dôsledku nedostatočnej transportnej kapacity krvi u anemických novorodencov.

CHOLÍNESTERÁZY – BIOMARKERY EXPOZÍCIE

Schwarzbacherová V., Holečková B., Šiviková K., Galdíková M., Dianovský J.

Ústav genetiky, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie, Košice, Slovenská republika

Úvod: Pesticídy okrem redukcie škodcov majú často negatívny vplyv na necieľové organizmy a znečisťujú životné prostredie. Neonikotínoidové insekticídy (napr. Calypso® 480SC s účinnou látkou tiakloprid, 480 g.l-1) patria do skupiny látok inhibujúcich aktivitu cholínesteráz (ChE). Účinkujú ako agonisti na nikotínových receptoroch pre acetylcholín, následkom čoho dochádza k prerušeniu prenosu nervového signálu u hmyzu a pravdepodobne aj ľudí. Práve stanovenie aktivity cholínesteráz spolu s ďalšími biomarkermi ako napr. hodnotenie prítomnosti chromozómových aberácií, mikrojadier atď. predstavuje vhodnú a rýchlu metódu detekcie expozície a environmentálneho znečistenia.

Metodika: Z krvi 6 býčkov (križence Holštajnského dobytky) boli izolované erytrocyty (zdroj acetylcholínesterázy, AChE) a plazma (zdroj butyrylcholínesterázy, BChE). Zmeny aktivity po in vitro expozícii neonikotínoidovému prípravku Calypso 480SC (3,75 – 180 µg.ml-1; Bayer, Slovensko) a tiaklopridu (5-180, 75–180 µg.ml-1; Sigma Aldrich, USA) sme vyhodnotili Ellmanovou spektrofotometrickou metódou na spektrofotometri Helios Beta (Thermo Electron Corporation, Madison, USA). Aktivita cholínesteráz je vyjadrená v µmol.dm-3.min-1 (U.l-1).

Výsledky: Zaznamenali sme dávkovo závislú inhibíciu aktivity AChE ($p < 0,01$ a $p < 0,001$) po expozícii komerčnému prípravku Calypso 480SC od testovanej koncentrácie 15 µg.ml-1. Po expozícii tiaklopridu sme zistili inhibíciu AChE ($p < 0,01$ a $p < 0,001$) od koncentrácie 30 µg.ml-1. Aktivita BChE bola znížená v dávkovej závislosti ($p < 0,05$, $p < 0,01$ a $p < 0,001$) od koncentrácie 15 µg.ml-1 po vystavení účinku Calypso 480SC. Naopak, štatisticky významná inhibícia aktivity BChE ($p < 0,05$ a $p < 0,01$) bola detegovaná iba pri najvyšších testovaných koncentráciách tiaklopridu; 150 a 180 µg.ml-1.

Záver: Naše výsledky podporujú zistenia o citlivosti cholínesteráz voči neonikotínoidom. Rozdiely zistené v aktivite ChE po exponovaní komerčným prípravkom Calypso 480SC a jeho čistou účinnou látkou tiaklopridom môžu indikovať vyššiu toxicitu komplexného prípravku oproti účinnej látke.

Práca bola podporená grantom VEGA č. 1/0043/15 a 1/0176/16.

P VLNA AKO PREDIKTÍVNY FAKTOR PREDSIEŇOVÝCH PORÚCH RYTMU

Sedláková E.¹, Sedlák J.², Beňačka R.¹, Križan J.³

¹Ústav patologickej fyziológie UPJŠ Košice, ²VÚSCH Košice, ³LF UPJŠ - študent 5. ročníka všeobecného lekárstva

Úvod: Fibrilácia predsiení (FP) je najčastejšou pretrvávajúcou srdcovou arytmiou. Podkladom vzniku fibrilácie predsiení je štrukturálna remodelácia myocytov i extracelulárnej matrix, ktorá je v praxi charakterizovaná zmenami vlny P na EKG zázname. FP zároveň predstavuje jeden zo závažných rizikových faktorov vzniku náhlej cievnej mozgovej príhody.

Metodika: Súbor tvorilo 127 pacientov (64 mužov, 63 žien), hospitalizovaných na Neurologickej klinike UNLP v Košiciach. Priemerný vek pacientov bol (65 rokov \pm 1,22), z toho u mužov bol priemerný vek (64 rokov \pm 2,33) a u žien (71 rokov \pm 4,22).

Do analyzovaného súboru boli vybratí pacienti s diagnózou cievnej mozgovej príhody ischemickej etiológie. U každého pacienta zo zdravotnej dokumentácie boli vyhodnocované anamnestické údaje, nálezy klinických a laboratórných vyšetrení a výsledky CT vyšetrenia mozgu. Súčasťou analýzy bolo aj vyhodnotenie EKG záznamu pri prijatí pacienta.

Výsledky: U 90 pacientov bol prítomný sínusový rytmus, u 37 pacientov fibrilácia alebo flutter predsiení. V II. zvode 12 zvodového štandardného EKG záznamu pri sínusovom rytme sme hodnotili trvanie P vlny, pričom za fyziologickú hodnotu sme považovali trvanie P vlny v čase do 110 ms. V našom súbore pacientov trvanie P vlny bolo v rozpätí od (80-140 ms), priemer (101,4 \pm 14,7ms). 66% pacientov malo normálne trvanie P vlny, 34% malo predĺžené trvanie P vlny.

Záver: Hodnoty trvania P vlny (ms) vo všeobecnosti nie sú štandardizované a v rámci našej štúdie sme zadefinovali trvanie vlny P do 110 ms za hraničnú hodnotu pre poruchu intraatriálnej vodivosti. 30 % pacientov so sinusovým rytmom bez anamnézy FP malo predĺžené trvanie P vlny, ktoré je známkou predĺženej intraatriálnej vodivosti. Môže byť aj markerom zvýšenej fibroblastickej aktivity v predsieňach. V tejto skupine je aj možnosť výskytu tzv. kryptogénnej FP, ktorej jediným klinickým príznakom môže byť ischemická CMP.

FUNKCE JATERNÍCH MITOCHONDRIÍ U POTKANŮ S NEALKOHOLOVOU JATERNÍ STEATÓZOU

Sobotka O., Kučera O., Staňková P., Endlicher R., Nožičková K., Banni A., Červinková Z
Ústav fyziologie, Lékařská Fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova, Česká republika

Nealkoholová jaterní steatóza (NAFLD) je porucha charakterizovaná nadměrnou akumulací lipidů v hepatocytech s možnou progresí do závažných forem jaterního postižení (steatohepatitída, jaterní cirhóza, hepatocelulární karcinom). Patogeneze NAFLD je spojena s inzulinovou rezistencí, narušeným metabolismem lipidů a zvýšenou produkcí reaktivních forem kyslíku. Většina studií zabývajících se NAFLD spojuje tuto poruchu s mitochondriální dysfunkcí, avšak s řadou rozporuplných výsledků. Cílem této studie je zhodnocení respiračních funkcí jaterních mitochondrií v průběhu jednoho až šesti týdnů podávání diety s vysokým obsahem tuků a cholesterolu.

K pokusům byli použiti samci potkanů kmene Wistar krmeni komerčně připravovanou dietou (Altromin) s vysokým obsahem cholesterolu a tuku (HFD, 70% energie z nasycených mastných kyselin obohacené o 1,25% cholesterolu) po dobu 1, 3 resp. 6 týdnů. Kontrolní potkani byli krmeni standardní dietou Altromin. Histologické změny jaterní tkáně byly hodnoceny po obarvení preparátů (hematoxylin eosin, Massonův trichrom, olejová červeň). Konsumpce kyslíku mitochondriemi byla měřena vysokoúčinnou respirometrií přístrojem Oxygraf-2k (OROBOROS, Innsbruck, Rakousko) s využitím standardizovaných referenčních protokolů.

Histologicky jsme prokázali zvýšenou akumulaci lipidů a mikroversikulární steatózu u potkanů krmených HFD. Vysoký obsah triacylglycerolů a cholesterolu byl zjištěn rovněž v jaterním homogenátu. Zvýšená akumulace lipidů byla zaznamenána již po prvním týdnu podávání HFD. Mitochondrie izolované ze steatotických jater potkanů vykazovaly zvýšenou kapacitu respirace při využití mastných kyselin jako substrátu a inhibici sukcinát-dependentní respirace. Tyto projevy byly více vyjádřeny po 3 a 6 týdnech krmení HFD.

Tato práce byla podpořena grantem PRVOUK 37/02

VPLYV APLIKÁCIE ĽANOVÉHO SEMENA V KOMBINÁCIÍ S PROBIOTIKAMI NA OBSAH MASTNÝCH KYSELÍN VO SVALOVINE ODSTAVČIAT

Sopková D.¹, Vlčková R.¹, Andrejčáková Z.¹, Hertelyová Z.³, Gancarčíková S.², Nemcová R.², Ondrašovičová, S.¹, Petrilla, V.¹.

¹Ústav fyziológie UVLF Košice, ²Laboratórium gnotobiológie UVLF Košice, ³Lekárska fakulta UPJŠ Košice, Slovenská republika

Úvod: Potravinársky výskum je zameraný na hľadanie suchozemských zdrojov ω -3 polynenasýtených mastných kyselín (PNMK), ktoré by dopĺňali ich nedostatok vo výžive ľudí. Vysoký obsah esenciálnej ω -3 kyseliny alfa-linolénovej (ALA) v ľanovom semene môže byť spôsobom ako nutrične obohatiť živočíšne produkty aj o ďalšie ω -3 PNMK, ktoré sú výsledkom biosyntézy v tkanivách živočíchov. Práca je zameraná na štúdium metabolizmu PNMK po aplikácii synbiotík vo forme ľanového semena (zdroj ω -3 PNMK) a probiotických syrov ošípaným v problémovom chove.

Metodika: Diéta pokusnej skupiny (n=6), ošípaných pochádzajúcich z chovu s potvrdenou prítomnosťou enterotoxigénnej E. coli a koronavírusu, bola počas 24 dní fortifikovaná synbiotikami – drvené ľanové semeno v 10% koncentrácii a probiotický syr (probiotická kultúra L. plantarum a L. fermentum; 1×10^9 CFU/g syra), 4 g/kus/deň pre každý syr. Diéta kontrolných zvierat (n=6), bola suplementovaná syrom bez probiotických kultúr, 8 g/kus/deň. Vzorky svaloviny boli odoberané v 10., 17. a 24. deň z m. biceps femoris, uskladnené pri -70 oC a analyzované plynovou chromatografiou s plameňovoizolačným detektorom (GC-FID). Rozdiely medzi skupinami boli hodnotené t-testom a dynamika zmien v rámci danej skupiny bola hodnotená testom Repeated measures ANOVA.

Výsledky: Suplementácia diéty synbiotikami mala po 24 dňoch pozitívny vplyv na hodnoty ω -3 ALA ($P < 0,001$) vo svalovine zvierat, následne zvýšenú biosyntézu EPA ($P < 0,001$) a rovnako aj konverziu EPA na DHA ($P < 0,001$) oproti kontrole. Hodnoty ω -6 kyseliny linolovej (LA) v skupine s aditívami boli zvýšené ($P < 0,01$) na 24. deň a ($P < 0,001$) oproti kontrole. Po aplikácii synbiotík sme pozorovali zníženú konverziu LA na AA na 17. a 24. deň ($P < 0,05$) a významne nižšiu ($P < 0,001$) v porovnaní s kontrolou.

Záver: Vysoký obsah esenciálnej ω -3 ALA v ľane je možné efektívne využiť na zvýšenie obsahu ω -3 PNMK v živočíšnych produktoch monogastrických zvierat, kde sa PNMK krmiva absorbujú z tenkého čreva v nezmenenej forme a sú zabudované do tkanív organizmu.

Práca podporená grantom Ministerstva ŠVVaŠ SR VEGA č.1/0476/16 a IGA č. 15/2016.

EXPERIMENTÁLNE STRATÉGIE NA PODPORU PRERASTANIA NERVOVÝCH VLÁKIEN PO TRAUMATICKOM POŠKODENÍ

Stropkovská A, Bimbová K., Bačová M., Fedorová J., Klimovičová M., Lukačová N.

Neurobiologický ústav, Slovenská akadémia vied, Košice, Slovenská republika

Úvod: Po poranení miechy dochádza v mieste lézie k akumulácii špecializovaných gliových buniek a tvorbe tzv. gliovej jazvy, ktorá vytvára fyzikálnu a biochemickú bariéru pre opätovný rast a prerastanie axónov. Molekuly, ktoré sú zodpovedné za inhibíciu rastu sa koncentrujú predovšetkým v mieste lézie. V CNS sú známe dve skupiny inhibítorov axonálneho rastu: 1) inhibítory asociované s ECM a 2) inhibítory asociované s myelínom. Cieľom našej práce bolo obmedziť rozvinutie cytoskeletárnych zmien v neurónoch, ktoré vedú k inhibícii rastu axónov a premostiť miesto lézie poréznym biomateriálom.

Materiál a metódy: V experimente boli použité potkany (kmeň Wistar) n=15. Zvieratá boli rozdelené do troch experimentálnych skupín: 1) kompresia miechy na úrovni Th9, ktorá spôsobila paraplégiu zadných končatín, 2) kompresia miechy a následná aplikácia blokátora RhoA molekuly asociovej s myelínom (Y-27632; i.t., 40 µg/deň po dobu 14 dní do subarachnoideálneho priestoru), 3). kombinovaná terapia: blokátor/porézna chitozanová matrica, implantovaná do miesta lézie 14 dní po navodení kompresie. Neurologické skóre experimentálnych zvierat bolo monitorované počas 8 týždňového prežívania. V tkanive miechy sme mapovali rozsah lézie, tvorbu gliovej jazvy a opätovné prerastanie poškodených axónov.

Výsledky: Lézia miechy po T9 kompresii bola detekovaná v rozsahu 12 mm rostrálne a kaudálne od miesta poškodenia. V jednotlivých skupinách nebol nepozorovaný výrazný rozdiel v rozsahu lézie a tvorby gliovej jazvy. U zvierat, ktorým bol po kompresii aplikovaný inhibítor sme pozorovali signifikantné zvýšenie expresie s rastom asociovaného proteínu GAP 43. V skupine blokátor/chitosan zostala motorická funkcia na úrovni zvierat bez terapie, kým aplikácia samotného inhibítora zaznamenala mierne vylepšenie neurologického skóre.

Záver: Implantácia porézneho konštruktu premostila miesto lézie. Aplikáciou blokátora sa dostavil žiadaný efekt; v okolí ako aj priamo v mieste lézie sa zvýšila expresia proteínu GAP 43, ktorý je exprimovaný vo vysokých dávkach v rastových kužeľoch počas vývoja alebo pri regenerácii axónov. Z výsledkov vyplýva, že blokátor (Y-27632) zvyšuje plasticitu a účinne podporuje opätovný rast poškodených axónov.

Práca bola podporená VEGA projektom 2/0173/14 a projektom APVV-15-0766.

BENEFICIAL EFFECT OF SAGE APPLIED IN BROILER RABBITS

Szabóová R.¹, Lauková A.², Chrastinová L.³, Pogány Simonová M.², Plachá I.², Vasilková Z.⁴, Chrenková M.³, Ondruška L.³, Stropfiová V.²

¹Ústav patologickej fyziológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie, Košice;

²Ústav fyziológie hospodárskych zvierat, Slovenská akadémia vied, Košice, ³Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum – Výskumný ústav živočíšnej výroby, Nitra;

⁴Parazitologický ústav, SAV, Košice, Slovenská republika

The aim of this study was to compare beneficial effect of *Salvia officinalis* L. (sage) plant extract on the microbiota as well as on production of lactic acid (LA) and volatile fatty acids (VFA) in the intestinal tract of broiler rabbits during different seasons (spring/autumn). Moreover, immunological, biochemical parameters were tested, effect on *Eimeria* spp. oocysts and quality of rabbit meat, as well. Broiler rabbits (n=48, Hy-Plus breed) were used in both experiments (A- in spring; B- in autumn). Rabbits were divided into the experimental group 1 (EG1; n=24; dose: 10 µl/animal/day sage extract applied at day 0-1 during 21 days into drinking water) and the control group 1 (CG1; n=24) in the experiment A as well as in the experimental group 2 (EG2; n=24; the same dose and sage application as in EG1) and the control group 2 (CG2; n=24) in the experiment B. Experiments lasted for 42 days. The significant immuno-modulatory effect (P<0.001) was noted; the reduction of *Pseudomonas* spp. bacteria as well as *Eimeria* spp. oocysts was detected in EG 1 (compared to CG1) and in EG2 (compared to CG2) at days 21 and 42 in both experiments. The biochemical parameters (serum levels of proteins, lipids, glucose, cholesterol and calcium), the values of LA and VFA of ceecal content as well as meat quality parameters (water content, energy value, pH48, total proteins and lipids) were not influenced by the sage extract administration in both experiments. Beneficial effect of sage in broiler rabbits is not associated with season of year.

This work was supported by the projects VEGA No. 2/0004/14, VEGA No. 2/0006/17.

CHOLÍNESTERÁZY V POTKANEJ AORTE

Szmicsekova K., Kilianova Z., Vetešková J., Šrankova J., Dingova D., Piváčková L., Křenek P., Hrabovska A.

Katedra farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta, UK v Bratislave

Úvod: Neneuronálny cholinergický systém je v posledných rokoch predmetom intenzívneho štúdia. Acetylcholín na cievach spôsobuje relaxáciu, avšak presný mechanizmus nie je objasnený. Taktiež nie je známe, či sú v cieve prítomné cholínesterázy – enzýmy zodpovedné za jeho degradáciu. Cieľom tejto práce bolo preukázať resp. vyvrátiť prítomnosť acetylcholínesterázy (AChE) a butyrylcholínesterázy (BChE) v aorte potkanov a študovať ich fyziologickú úlohu.

Metodika: Použili sme torakálne aorty 12-týždňových potkanov rodu Wistar. Aktivitné farbenie bolo realizované podľa metódy Tsuji (Tsuji S. et al., 1983), pričom sme použili selektívny inhibítor pre BChE iso-OMPU a selektívny inhibítor pre AChE BW284C51. AChE aj BChE sme taktiež detegovali imunohistochemicky pomocou nami pripravených anti-AChE protilátok a monoklonálnych 4H1 anti-BChE protilátok. BChE bola kolokalizovaná s markerom hladkého svalstva (anti-MLCK) a markerom endotelu (anti-e-NOS). Pre kvantitatívnu real-time PCR bola izolovaná mRNA a následne podrobená reverznej transkripcii. Pomocou špecifických primerov sme stanovili relatívnu expresiu AChE a BChE. Napokon sme sledovali vplyv inhibície BChE na acetylcholínom navodenú relaxáciu izolovanej aorty s použitím selektívneho inhibítora BChE iso-OMPA (10⁻³ mol/l). Aorta bola prekontrahovaná fenylefrínom (10⁻⁶ mol/l) a následne bol aplikovaný acetylcholín so stúpajúcou koncentráciou od 10⁻⁹ po 3.10⁻⁵ mol/l.

Výsledky: Výsledky aktivitného farbenia cholínesteráz naznačujú, že v aorte potkana je prítomná aktivita obidvoch nami študovaných enzýmov, s vyšším zastúpením BChE. AChE a BChE sme úspešne detegovali aj imunohistochemicky, pričom sa vyznačovali obdobnou lokalizáciou v rámci tkaniva, sústredenou do pruhov. Kolokalizácia s MLCK ukázala, že BChE je exprimovaná predominantne v hladkej svalovine, pričom jej detekcia v rámci endotelu je zanedbateľná. Pomocou metodiky kvantitatívnej real-time PCR sme v aorte potvrdili prítomnosť mRNA pre AChE aj BChE, pričom predominantná bola BChE. Fyziologický význam BChE v cievach bol testovaný vo funkčných experimentoch. Selektívna inhibícia BChE pomocou iso-OMPA (10⁻³ mol/l) spôsobila pokles relaxácie cievy v porovnaní s cievami bez aplikácie iso-OMPA.

Záver: Z našich výsledkov vyplýva, že aktivita BChE viacnásobne prevyšuje nad aktivitou AChE v aorte potkana. Funkčné experimenty ukázali, že BChE v aorte je potrebná pre neskorú fázu relaxácie navodenej ACh, a teda môže mať protektívnu funkciu.

SOCIÁLNA HRA ADOLESCENTNÝCH MLÁĎAT POTKANA LABORATÓRNEHO PO NEONATÁLNO M OVPLYVNENÍ METAMFETAMÍNOM

Ševčíková M., Holubová A., Hřebíčková I., Šlamberová R.

Ústav normální, patologické a klinické fyziologie, 3. lékařská fakulta, Karlova Univerzita, Praha Česká republika

Úvod: Metamfetamín (MA) patří medzi najčastejšie zneužívané drogy medzi závislými tehotnými ženami. Keďže prechádza do materského mlieka, môže negatívne ovplyvniť dieťa aj po narodení. Cieľom tejto štúdie bolo zistiť účinok MA podávaného počas 11 dní po narodení na sociálnu hru mláďat v juvenilnom veku. Sociálna hra predstavuje podstatný prvok vo vývine sociálneho správania, prispôsobivosti a prostriedok pre vytvorenie hierarchie a kohézie skupiny.

Metodika: Mláďatá boli vystavené účinkom MA počas postnatálnych dní (PD) 1-11 priamo (dávka 5 mg/kg s.c.) alebo nepriamo prostredníctvom materského mlieka (rovnaká dávka). Kontrolným skupinám bol aplikovaný fyziologický roztok. 2 dni pred testom boli mláďatá habituované v testovacej klietke po dobu 10 min. PD 30 bola 45 min pred testom mláďatám aplikovaná akútna dávka MA (1 mg/kg s.c.) alebo fyziologický roztok a boli sledované prvky sociálnej hry - prichytenie sa a napadnutie po dobu 15 min.

Výsledky: Kontrolná skupina mláďat neonatálne vystavených účinkom fyziologického roztoku priamo, prejavovali častejšie prvky sociálnej hry v porovnaní s kontrolnými mláďatami ovplyvnenými nepriamo. Akútna aplikácia MA eliminovala prvky sociálnej hry u všetkých testovaných skupín. Trvanie sociálnej hry bolo kratšie u samíc v porovnaní so samcami. Akútny MA znížil tiež sociálnu exploráciu u samíc.

Záver: Na základe našich výsledkov sa zdá, že neonatálny MA neovplyvnil prvky sociálnej hry vo väčšej miere. Akútny MA však sociálnu hru potlačil.

Práca bola podporená grantom GAUK 88315, PRVOUK P34

OLFACTORY BULBECTOMY IN RAT MOTHERS INDUCES IMPAIRMENT IN MORPHOLOGICAL AND FUNCTIONAL DEVELOPMENT OF THEIR OFFSPRING

Šlamberová R.¹, Rudá-Kučerová J.², Babinská Z.², Ševčíková M.¹

¹*Charles University, Third Faculty of Medicine, Department of Normal, Pathological and Clinical Physiology, Prague, Czech Republic;* ²*Masaryk University, Faculty of Medicine, Department of Pharmacology, Brno, Czech Republic*

Introduction: Olfactory bulbectomy in rodents is considered a putative model of depression that produces behavioral, physiological, and neurochemical alterations resembling clinical depression. Stress and depression are often associated with drug addiction. Our previous studies demonstrated that methamphetamine (MA) administration to rat mothers affects both, behavior of the mothers and their pups. Therefore, the aim of the present study was to examine the effect of bulbectomy and MA administration on behavior of mothers and postnatal development of their pups.

Methods: At the beginning of the behavioral and neurochemical experiments, female rats were randomly divided into two groups: one half of adult females was bulbectomized (OBX), while the other was sham-operated (SH). A period of at least 20 days was allowed for the recovery from the surgical procedure and the development of the depressive-like syndrome. During this period, animals were handled daily for few minutes to eliminate aggressiveness. Animals were tested in the sucrose preference and motor activity test (LABORAS) for anhedonia and hyperactive locomotor response to a novel environment, respectively. After then females were impregnated with sexually mature males. Pregnant females were exposed to daily subcutaneous (s. c.) injection of MA (5 mg/kg) or saline (SA) during the entire gestation period. Postnatally, maternal behavior and pup development was examined. The effect of challenge dose of MA (1 mg/kg, s. c.) on behavior in the LABORAS test was further examined in adult offspring males.

Results: Our results showed no differences in the maternal behavior as a matter of bulbectomy, only OBX rats slept more than all the SH controls, which might be due to the effect of depressive-like phenotype. Pups from OBX mothers were born with lower birthweight and gained less weight during the postnatal development than pups from SH controls. In addition, the SH/SA group opened eyes earlier than all the other groups, meaning that both, the bulbectomy and MA administration, delayed the eyes opening. As a matter of functional development of the pups, bulbectomy impaired the performance in Righting reflex on postnatal day 12 (regardless of the drug treatment saline or MA) and performance in the Bar-holding test, but only in saline group. OBX/SA group was the worst in the Bar-holding test relative to all the other groups. In addition, pups from OBX mothers dropped more boluses during the Bar-holding test, suggesting that they were more stressed. In the LABORAS test, there were no differences in the performance in adult females (future mothers) with or without bulbectomy. In adult male offspring, chronic prenatal MA exposure increased locomotion and rearing, while decreasing immobility. In addition, challenge dose of MA in adulthood increased distance traveled, locomotion, rearing, and average and maximal velocity, while decreasing immobility and grooming.

Conclusion: In conclusion, our results suggest that depressive-like phenotype of rat mothers induces impairment in morphological and functional development of their offspring.

Supported by: PRVOUK P34, GAUK 88615, 260277/SVV/2016

CONCENTRATION OF SPECIFIC MARKERS IN PATIENTS WITH SUBCLINICAL FORM OF ATHEROSCLEROSIS

Štefanič P.¹, Závacká M.¹, Pobeňová J.¹, Kopolovets I.¹, Frankovičová M.¹, Hertelyová Z.², Petrášová D.³

¹*Clinic of Vascular Surgery, VÚSCH a.s., UPJŠ, Faculty of Medicine, Košice;* ²*Institute of Experimental Medicine, UPJŠ, Faculty of Medicine, Košice;* ³*Laboratory of Research Biomodels, UPJŠ, Faculty of Medicine, Košice, Slovak Republic*

Introduction: Stroke is the third most common cause to death and also presents the most common reason of premature permanent invalidism. 15% of strokes occur as the result of severe damage to internal carotid artery (ICA). The risk of stroke largely depends on the composition of atherosclerotic plaque. About 30% of asymptomatic patients with haemodynamically significant stenosis of ICA feature soft atherosclerotic plaque. One of the options of stroke prevention, then, is a surgical treatment - carotid endarterectomy. However, the surgical benefit is not so significant in asymptomatic patients where the risk of recurrent stroke in the first year after the surgery is 3,2% while the risk of a perioperative stroke is about 3%. One of the possibilities of high risk asymptomatic patients' detection is the examination of specific blood markers.

Methods: The research was carried out in 52 patients with asymptomatic stenosis of ICA who were identified for carotid endarterectomy. All the patients were divided into three groups according to ultrasonographic examination results: 20 (38%) patients with soft atherosclerotic plaque, 11 (21%) patients with mixed atherosclerotic plaque and 22 (41%) patients with hard atherosclerotic plaque. All the patients were taken blood samples one a day prior to operation. The samples were to determine the concentration of specific markers (leptin, hemopexine and lipoprotein associated phospholipase A2 – Lp-PLA2). The levels of tracked parameters were determined with the use of ELISA method and the results evaluated with Tukey test.

Results: The changes in concentration of hemopexine and leptin did not feature statistically significant difference $p > 0,05$, however, significant differences between the groups were found for the concentration of Lp-PLA2 $p < 0,001$.

Conclusion: Higher concentrations of Lp-PLA2 might contribute to early detection of patients with a high risk of stroke that is why an early indicated carotid endarterectomy could contribute to decrease in stroke occurrence in patients with carotid artery stenosis.

ANALÝZA GÉNOVEJ EXPRESIE VYBRANÝCH NEUROPEPTIDOV V HYPOTALAME TGR(MREN2)27 POTKANOV A POSÚDENIE VPLYVU CROSSFOSTERINGU

Štefánik P., Dzirbíková Z., Lucia Olexová L., Pavel Svitok P.

Katedra živočíšnej fyziológie a etológie PrifUK, Bratislava, Slovenská republika

Úvod: TGR(mRen2)27 potkany, nesúce myšiu renínový gén, sú jedným z animálnych modelov hypertenzie. Ich potomstvo, v čase do odstavu zaostávalo v priberaní na hmotnosti oproti potomstvu kmeňa Hanoverských Sprague Dawley. Z toho dôvodu sme sa rozhodli analyzovať génovú expresiu vybraných peptidov, ktoré sa podieľajú na regulácii TK, ale aj príjmu potravy.

Metodika: K analýze génovej expresie boli použité mozgy samcov potkanov TGR a HanSD vo veku 15 týždňov. Analýza zahŕňala štyri skupiny: HanSD/HanSD n=6, HanSD/TGR n=6, TGR/HanSD n=6, TGR/TGR n=6. Prvý údaj je kmeň potomstva a druhý kmeň kojacej samice. Analýza bola urobená pomocou metodiky ISH s RTG značenými cDNA próbami na 14µm rezoch z oblasti predného a centrálného hypotalamu. Maximálna OD signálu normalizovaná odpočtom OD pozadia boli použité v 2f-ANOV-e s faktormi genotyp potomka a laktácia. Vplyv laktácie bol tiež separátne posudzovaný jednoduchým t-testom.

Výsledky: Zmenené hladiny mRNA pre OT sme pozorovali v SON hypotalamu ($F(1,20) = 6.598$, $p=0.018$). U TGR potkanov boli nižšie, ako u HanSD. Obdobný trend sme pozorovali aj v PVN jadre ($F(1,20) = 3.170$, $p=0.090$). U AVP mRNA sme nepozorovali významné zmeny hladín v SON ani v SCN. Avšak v SCN bol badateľný trend k zvýšeným hladinám v spojitosti s kojacou TGR matkou ($F(1,14) = 3.402$, $p=0.086$). Génová expresia CART nebola významne zmenená v Arq. n., ale hladiny jeho mRNA boli vyššie v PVN TGR potkanov v porovnaní s HanSD ($F(1,20) = 7.545$, $p=0.012$). V LH sme zase pozorovali významný vplyv laktácie TGR matkou u HanSD potomstva ($t=-2,619$, $p=0,026$), kedy HanSD/TGR samce mali vyššie hladiny CART mRNA v porovnaní s HanSD/HanSD. Zmenené hladiny mRNA NpY a AgrP, oba merané v Arq. n., sme nepozorovali. Hladiny mRNA OTR boli merané v oblasti VLH a PVN. Kým vo VLH sme zmeny nepozorovali, v oblasti PVN sme zistili významne vyššie hladiny u TGR potkanov v porovnaní s HanSD ($F(1,20) = 14.350$, $p=0.001$).

Záver: Podarilo sa nám preukázať zmeny v expresii niektorých peptidov v hypotalame TGR potkanov v porovnaní s HanSD. Aká je spojitosť s hypertenziou a skorými rozdielmi vo váhe je otázná. Pro-anorektický efekt má zo zmenených peptidov len CART.

MOŽNOSTI LIEČBY SPÁNKOVÝCH PORÚCH DÝCHANIA

Štimmelová J., Grešová S., Bačová I., Švorc P., Peregrim I., Tomori Z., Donič V.

Ústav humánnej fyziológie, LF UPJŠ, Košice, Slovenská republika

Spánkové poruchy dýchania (SPD) sú charakterizované abnormalitami dýchania počas spánku. Predstavujú širokú škálu ochorení – syndróm centrálného spánkového apnoe (CSA), syndróm obštrukčného spánkového apnoe (OSA), hypoventilačné ochorenie viazané na spánok a hypoxémia spojená so spánkom. Spoločným znakom syndrémov spánkového apnoe – hypopnoe je prechodné zastavenie dýchania počas spánku s rôznymi symptómami. Liečba rôznych foriem SPD závisí od ich stupňa závažnosti, typu ochorenia, prípadne od prítomnosti pridružených ochorení.

Pre liečbu CSA je štandardným postupom ventilačná terapia CPAP prístrojom, ak táto nie je tolerovaná, voľbou je liečba medikamentózna, u pacientov so závažnými ochoreniami obličiek oxygenoterapia a nočná dialýza.

Odporúčané terapeutické postupy pri liečbe OSA sú: behaviorálna, farmakologická, chirurgická, mechanická a ventilačná liečba, každá je indikovaná podľa individuálnych potrieb pacienta.

V ostatnom období sa kladie dôraz na hľadanie iných spôsobov liečby SPD, ktoré by znamenali alternatívu spomínaných postupov. Sú to invazívne elektrostimulačné metódy liečby, pri ktorých sa používa priama stimulácia nervus hypoglossus, ktorá cestou stimulácie dilatátorov horných dýchacích ciest (HDC), zlepšuje priechodnosť faryngu a redukuje odpor HDC. Neinvazívnou alternatívou, ktorá pre pacientov eliminuje diskomfort spojený s ventilačnou terapiou, prípadne s invazívnym zásahom do organizmu pri aplikácii stimulátora, sú neinvazívne elektrostimulačné metódy liečby SPD, zahŕňajúce transkutánnu elektrostimuláciu rôznych častí tela.

Úplne novou neinvazívnou, nefarmakologickou možnosťou liečby širokej škály ochorení, medziiným aj SPD, je transkutánná aurikulárna stimulácia, ktorá vďaka možnosti fixovať elektródu v snímateľnej vložke do auricula zabezpečuje dlhodobú komfortnú liečbu pacientov so SPD aj v domácom prostredí.

POSÚDENIE VPLYVU CELKOVEJ ANESTÉZIE NA ELEKTROFYZIOLOGICKÉ PARAMETRE MYOKARU POTKANA. CHRONOBIOLOGICKÁ ŠTÚDIA

Švorc P.¹, Švorc P., Jr.², Nováková M.¹, Bačová I.¹, Grešová S.¹, Štimmelová J.¹

¹Ústav humánnej fyziológie, Lekárska fakulta UPJŠ, Košice, Slovenská republika

²Ústav fyziológie a patofyziológie, Lekárska fakulta Ostravská univerzita, Ostrava, Česká republika

Úvod: Poruchy srdcového rytmu sú predpovedateľné zmenami v elektrofyziologických parametroch myokardu a teda znalosť ich východzieho stavu, môže významne ovplyvniť interpretáciu experimentálnych výsledkov. Chronobiologické štúdie skúmajúce interakcie medzi celkovou anestéziou a dennými rytmiami naznačujú, že celkové anestetiká majú významný vplyv na vitálne funkcie. Doteraz však neexistujú žiadne literárne dôkazy o účinku anestézie na srdcovú frekvenciu a na rozhodujúce elektrofyziologické parametre myokardu ako funkcie svetla a tmy.

Cieľ: Špecifickým cieľom tejto štúdie, pokiaľ ide o závislosť na cykle striedajúceho sa svetla a tmy (LD cyklus) v podmienkach in vivo pri spontánnom dýchaní u pentobarbitalom (40mg/kg), ketamín-xylazínom (100mg/kg + 15mg/kg) a zoletilom (30mg/kg) anestetizovaných potkanov, bolo vyhodnotiť rozdiely v elektrofyziologických parametroch, ktoré môžu predpovedať nástup alebo vývoj porúch srdcového rytmu.

Metodika: Štúdia bola robená na samiciach potkana kmeňa Wistar po adaptácii na LD cyklus 12h svetlo: 12h tma). Frekvencia srdca, rektálna teplota meraná pred a po podaní anestetika a trvanie PQ a QT intervalov boli hodnotené z hľadiska ich závislosti na LD cykle.

Výsledky: Svetlo-tma rozdiely v sledovaných parametroch boli zrušené v pentobarbitalovej anestézii, v ketamín-xylazínovej anestézii boli modifikované a v zoletilovej anestézii boli zachované.

Záver: Na základe našich výsledkov sme došli k záveru, že najväčšie predispozície pre rozvoj komorových arytmií vyplývajúcich z porúch tvorby a vedenia impulzov sú v zoletilovej anestézii vo svetlej (neaktívnej) perióde a komorových arytmií vyplývajúcich z porúch v disperzii refraktérnych periód sú v ketamín-xylazínovej anestézii a taktiež vo svetlej (neaktívnej) perióde režimového dňa potkana. Pentobarbitalová, rovnako ako aj ketamín-xylazínová anestézia, na rozdiel od zoletilovej anestézie, nie sú vhodné pre chronobiologické elektrokardiografické štúdie, nakoľko pravdepodobne narušujú, alebo modifikujú denný rytmus zmien v elektrofyziologických parametroch.

DYNAMIKA ZMĚN SRDEČNÍ VARIABILITY PO DLOUHODOBÉ EXPOZICI TMOU

Švorc P., Jr.¹, Maluš M.², Černocký O.¹, Vavřina Z.¹, Ekrťová T.¹, Škrda D.¹, Lubojacký J.¹

¹Ústav fyziologie a patofyziologie, Lékařská fakulta, Ostravská univerzita, Ostrava;

²Katedra psychologie, Filozofická fakulta, Ostravská univerzita, Ostrava, Česká republika

Úvod: Cílem této studie bylo vyhodnotit vliv dlouhodobé expozice tmy na HRV parametry u mladých lidí. Jedná se o experimentální metodu, která se v současnosti využívá v psychologii. Dosavadní výsledky „terapie tmou - TT“ poukazují na zlepšení mentálního zdraví lidí žijících pod neustálým stresem. Zatím však nebyly zjištěny žádné poznatky z oblasti fungování autonomního nervového systému v závislosti na dlouhodobém pobytu ve tmě a jeho regulačního vlivu na kardiovaskulární systém.

Metodika: Hodnocení probíhalo u 14 studentů (věk 19-26 let), umístěných na 96 hodin do místnosti s maximální tmou. Místnost splňovala podmínky pro pohodlný pobyt a byla umístěna na tichém místě. Probandi byli sociálně izolovaní a bez znalostí času. Účastníci během pobytu dostávali jídlo a pití ad libitum. Měření probíhalo den před nástupem na pobyt, v den ukončení pobytu a následně čtvrtý a sedmý den po pobytu. Pro měření se použil ortostatický test. Byly hodnoceny parametry power LF, power HF a LF/HF.

Výsledky: Power LF během měření vykazoval normální fyziologické průběhy bez jakékoliv míry signifikantnosti avšak s vyšší aktivitou LF během polohy ve stoji. Power HF vykazoval signifikantní změnu mezi prvním a druhým měřením v horizontální poloze ($p \leq 0,05$), která měla přetrvávající trend i během třetího a čtvrtého měření. Poměr mezi LF/HF poukazoval na modulační vliv jak sympatiku, tak i parasympatiku během ortostatického testu taktéž bez signifikantnosti.

Závěr: 96 hodin pobytu a následně i časová dezorientace s největší pravděpodobností měla vliv na regulaci hlavně parasympatiku po ukončení pobytu ve tmě, na což poukazuje i přetrvávající snížená tepová frekvence zjištěna v jiné navazující studii TT. Nakolik je srdeční frekvence jedním z markerů ovlivňujících kardiovaskulární onemocnění, je tento efekt žádoucí.

Práce byla podpořena grantem No. SGS10/FF/2016-2017

VPLYV STRESU NA LEUKOGRAM ŠPORTOVÝCH KONÍ

Tarabová L., Faixová Z., Maková Z., Piešová E., Szabóová R.

Ústav patologickej fyziológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Košice, Slovenská republika

Pôsobenie stresu vyvoláva v organizme zvierat a ľudí súbor poplachových reakcií, ktoré sa prejavujú zvýšenou činnosťou imunitného a kardiovaskulárneho systému, ako aj žliaz s vnútorným vylučovaním, ktoré uvoľňujú hormóny, vplývajúce okrem iného aj na zastúpenie jednotlivých typov leukocytov v periférnej krvi. Za stresor sa považuje najmä pôsobenie baktérií, vírusov, bolesti, ale aj hluk a odlúčenie od sociálnej skupiny. To, ako organizmus zareaguje na stres, závisí na individualite konkrétneho jedinca, ako aj na jeho fyzickej a psychickej kondícii.

Kone, ako lovená korisť, sú veľmi vnímavé na zmeny v ich okolí, preto reagujú veľmi citlivo aj na stresory, ktoré na iné živočíšne druhy pôsobia zanedbateľne. V tejto práci sme sa zamerali na sledovanie zmien v leukograme u športových koní, ktoré boli vystavené pre nich novej situácii, Hubertovej jazde, ktorá spočívala v sprievode koní cez mesto a teda kontaktom s dopravnou špičkou, nezvyčajným hlukom, množstvom ľudí a v spoločnosti neznámych koní. Z krvných náterov vytvorených po odobratí krvi pred jazdou v pokoji v maštali a po jazde, sme stanovovali diferenciálny leukogram. Predpokladali sme, že športové kone sú odolnejšie voči stresu, pretože pravidelne prichádzajú do kontaktu s novými situáciami, ako sú transport a ruch na pretekoch. Ukázalo sa však, že aj napriek ich skúsenostiam, bola Hubertova jazda pre niektoré športové kone výrazne stresujúcim zážitkom. V krvnom nátere týchto koní sme pozorovali oproti vzorkám odobratým pred jazdou výrazné zvýšenie počtu neutrofilov - neutrofiliiu a zníženie množstva lymfocytov -lymfocytopeniu. Tieto zmeny sú typické pri zvýšenom vylučovaní glukokortikoidov, hormónov, ktoré sú vo zvýšenom množstve sekretované žľazami s vnútorným vylučovaním keď je organizmus vystavený stresu.

PORUCHY SPÁNKU SPÔSOBENÉ REUMATOIDNOU ARTRITÍDOU A ICH VZÁJOMNÝ VZŤAH

Tokárová D., Lukačínová A., Donič V.

Ústav lekárskej fyziológie, LF UPJŠ, Košice, Slovenská republika

Spánok je nevyhnutný pre každodennú obnovu schopností mozgu, kognitívnych činností a riadenie organizmu. Poznáme NREM (non rapid eye movement) spánok, ktorý sa delí na štádia N1, N2, N3 a N4. Štádia N3 a N4 (hlboký spánok alebo spánok s pomalými vlnami – SWS), slúžia na regeneráciu organizmu zvlášť nervových štruktúr, a REM (rapid eye movement) spánok, ktorý sa považuje za kľúčovú pre fixáciu pamäťových stôp, pre metabolickú regeneráciu a dostatočnú obnovu fyzických a psychických síl. Keď sčítame všetky spánkové štádiá v priebehu noci u dospelých jedincov N1 by malo tvoriť 5%, N2 asi 50%, N3 a N4 približne 20 % a REM spánok 25% celkovej doby spánku. Tieto podiely sa menia za rôznych podmienok napríklad po spánkovej deprivácii spôsobenej chronickou bolesťou pri reumatoidnej artritíde (RA). RA je zápalové autoimunitné ochorenie, charakteristické bolesťou kĺbov, rannou stuhnutosťou, slabosťou, únavou a poruchami spánku. Mnoho pacientov s RA sa sťažuje na nedostatočný alebo fragmentovaný nočný spánok či zvýšenú dennú spavosť. Bolesťivý podnet zvyšuje frekvenciu prebudení, ktoré narušujú kontinuitu spánku a menia jeho fyziologický priebeh. Polysomnografické štúdie dokumentujú zníženú efektivitu spánku, redukciu fázy REM, predĺženie štádia 1 a 2 NREM na úkor skrátenia až vymiznutia štádia 3 a 4 NREM spánku, pričom sa narúša regeneračný spánok pomalých vln (SWS). Predpokladá sa, že takto zmenený spánok hrá dôležitú úlohu v tolerancii bolesti. Narušená kontinuita spánku znižuje prah bolesti, čo sa prejavuje zvýšenou bolestivosťou. Ďalšou významnou príčinou porúch spánku u reumatikov je vplyv nesteroidných antireumatík (NSA) využívaných v liečbe bolesti. NSA môžu vplývať na spánok inhibíciou syntézy prostaglandínov, ktoré hrajú dôležitú úlohu pri regulácii spánku v CNS. Účinok na prostaglandín D2 redukuje sekréciu melatonínu. NSA menia architektoniku spánku, čo sa prejavuje redukciou trvania štádia 3 a 4 NREM (SWS) a REM spánku, zníženou efektivitou a celkovou dobou spánku. Vylúčenie REM spánku a SWS znižuje toleranciu bolesti na mechanický podnet. Nedostatok spánku u pacientov vedie k depresii, úzkosti, útlmu psychomotorickej výkonnosti a zvýšeniu sekrécie prozápalových cytokínov TNF- alfa, ktoré podľa dostupných údajov vedú k zvýšeniu intenzity bolestivosti a rannému zápalu.

VPLYV DĚLKY PREDEGENERÁCIE NA KULTÚRU SCHWANNOVYCH BUNIEK

Tomko P., Vanický I.

Neurobiologický ústav, Slovenská akadémia vied, Šoltésovej 4,6, Košice, Slovenská Republika

Úvod: Schwannove bunky (SC) sú gliové bunky periférneho nervového systému, s dôležitou podpornou a vyživovacou funkciou. Ich schopnosť naviesť prerastajúce axóny a myelinizovať ich predurčuje k použitiu pre opravu poškodených periférnych nervov. Pri príprave kultúr SC sú veľkým problémom rýchlo sa množiacie fibroblasty, ktoré prerastajú kultúru a potláčajú rast SC. Jedným zo spôsobov ako tomuto zabrániť je predegenerácia nervu, pričom jej dĺžka sa v jednotlivých protokoloch líši (od jedného až po päť týždňov). Preto sme v našom experimente sledovali optimálnu dĺžku predegenerácie.

Metodika: V experimentoch boli použité potkany kmeňa Wistar, ktoré boli usmrtené a boli im odobrané sedacie nervy. Nervy boli zbavené epineuria, nastrihané na kúsky a vložené do kultivačných jamiek s médiom podľa protokolu Morrissey et al., 1991. Médium bolo menené dvakrát týždenne. Kúsky nervov boli preložené každý týždeň do novej jamky. Po 2, 3 a 5 týždňoch boli kúsky vložené do roztoku kolagenázy, natrávené a bunky boli prenesené do nových jamiek, kde boli kultivované v médiu podľa protokolu Haastert et al., 2012. Médium bolo menené každý druhý deň a kultúra bola priebežne pozorovaná a fotená.

Výsledky: Vo všetkých jamkách sa v prvých dňoch po nasadení buniek neukazoval výraznejší rozdiel. Avšak po prvom týždni sa v jamkách s predchádzajúcou dvojtýždňovou predegeneráciou objavovali ostrovčeky fibroblastov, ktoré postupne prerástli celú kultúru. V jamkách s päťtýždňovou predegeneráciou sa fibroblasty vyskytovali v menšej miere, neprerastali kultúru. Naopak sa v nej množili SC, ktoré nadobúdali im typický tvar a štruktúru. V prípade jamiek s trojtýždňovou predegeneráciou dochádzalo k prerastaniu aj fibroblastov aj SC, s rôznym pomerom v jednotlivých jamkách.

Záver: Kultúra buniek s dlhším časom predegenerácie obsahuje výrazne menej fibroblastov, a aj po pasážovaní sa v jamkách množia SC a fibroblasty sú potlačené. Dlhší čas predegenerácie tkaniva je preto vhodnejší pre prípravu kultúr s čistou populáciou SC.

Práca bola podporená grantom APVV-14-0847

PUPILÁRNY REFLEX V KONTEXTE KOGNÍCIÍ A EMÓCIÍ PRI DEPRESÍVNEJ PORUCHE

Tonhajzerová I.^{1,2}, Mešťaniková A.^{1,2}, Cesneková D.³, Oppa M.³, Hrtánek I.³, Mešťaník M.², Višňovcová Z.², Bujňáková I.^{1,2}, Ondrejka I.³

¹Ústav fyziológie JLF UK; ²Martinské centrum pre biomedicínu JLF UK; ³Psychiatrická klinika JLF UK a Univerzitná nemocnica Martin

Úvod: Pupilárny reflex – zmeny priemeru zrenice na svetelný podnet - patrí medzi neinvazívne možnosti hodnotenia aktivity obidvoch subsystémov autonómneho nervového systému (ANS) v kontexte psychofyziologických procesov (napr. pozornosti). Využitie hodnotenia tzv. pupilárneho reflexu pri psychických poruchách v detskom a adolescentnom veku je ojedinelé. Cieľom bolo zistiť zmeny pupilárneho reflexu v odpovedi na mentálny stresor v skupine adolescentných pacientov s depresívnou poruchou.

Metodika: Skupina 25 pacientov s depresívnou poruchou (vek: 15,2±0,3 r.) a 25 zdravých probandov rovnakého veku a pohlavia bolo vyšetrených v psychofyziologickom laboratóriu. Zmeny priemeru zrenice v absolútnej a percentuálnej hodnote boli zisťované počas pokoja a po aplikácii mentálneho stresora – GO/NoGO použitím prístroja Pupillometer PLR-2000 (NeuroOptics, USA) osobitne pre pravé a ľavé oko.

Výsledky: Skupina depresívnych pacientov mala signifikantne nižšiu reaktivitu pupilárneho reflexu oproti kontrolnej skupine po aplikácii mentálneho stresora (pravá strana: -25 % vs. -29 %, p=0,014; ľavá strana: -25% vs. -29%, p=0,012). Medzi zmenami priemeru zrenice na pravej a ľavej strane neboli zistené signifikantné rozdiely. Bazálna hodnota nevykazovala signifikantné rozdiely medzi jednotlivými skupinami.

Záver: Znížená reaktivita pupilárneho reflexu môže poukazovať na diskkrétne abnormality parasimpatikovej modulácie s možným posunom autonómnej rovnováhy smerom k sympatikotónii pri depresívnej poruche v adolescentnom veku. Dané zistenia sú v súlade so zisteniami zníženej kardiovagovej regulácie činnosti srdca pri adolescentnej depresii, a teda predpokladáme, že poznanie jemných zmien centrálnych regulačných vplyvov ANS môže prispieť ku stanoveniu komplexnej autonómnej charakteristiky adolescentnej depresie a predstavovať tak kľúčový bod vo využití pupilometrie v pedopsychiatrii, napr. pri sledovaní farmakoterapie.

Práca bola podporená projektom „Martinské centrum pre biomedicínu (BioMed Martin)“ ITMS kód projektu: 26220220187, ktorý je spolufinancovaný zo zdrojov EÚ a grantom VEGA 1/0087/14.

KOENZÝM Q10 ZVÄČŠUJE BENEFIČNÉ ÚČINKY SIMVASTATÍNU NA ENDOTELOVÚ FUNKCIU MEZENTERICKEJ ARTÉRIE U OBÉZNYCH POTKANOV KMEŇA ZUCKER

Török J., Zemančíková A., Reháková R., Cebová M., Košútová M., Pecháňová O.
Ústav normálnej a patologickej fyziológie SAV, Bratislava, Slovenská republika

Úvod: Simvastatínom vyvolaná redukcia plazmatického cholesterolu zlepšuje endotelovú funkciu a limituje rozvoj aterosklerózy. Statíny majú aj od cholesterolu nezávislý, „pleiotropný“ vaskulárny efekt prejavujúci sa zvýšením biodostupnosti oxidu dusnatého. Perorálne podávanie simvastatínu (SIM) potláča biosyntézu koenzýmu Q10 (CoQ10). V tejto štúdii boli sledované účinky SIM a CoQ10 na funkčné vlastnosti izolovanej mezenterickej artérie obéznych potkanov kmeňa Zucker.

Metóda: V pokusoch boli použité geneticky obézne Zucker (fa/fa) potkany a normotenzné Wistar-Kyoto potkany (WKY). Zucker (fa/fa) potkany (12 týždňov staré) tvorili skupiny: kontroly, Zucker potkany, ktorým bol podávaný buď samostatný SIM (15mg/kg/deň) alebo samostatný CoQ10 (30mg/kg/deň) a Zucker potkany, ktorým bola podávaná kombinácia SIM + CoQ10. SIM bol rozpustený v sezamovom oleji. Cievnu funkciu sme hodnotili na základe zmien izometrickej tenzie prstencov izolovanej a. mesenterica po aplikácii vazoaktívnych látok (acetylcholín, noradrenalín) a elektrickej stimulácie perivaskulárnych nervov. Aktivita syntázy oxidu dusnatého (NOS) bola stanovená pomocou konverzie L-arginínu na L-citrulín.

Výsledky: Šesťtýždňové podávanie samotného SIM alebo CoQ10, ako ani ich kombinácia neovplyvnili veľkosť systolického krvného tlaku u bdelych Zucker (fa/fa) potkanov. Neboli zistené významné rozdiely v hmotnosti tela ani v relatívnej hmotnosti srdca. Kontrakcie vyvolané noradrenalínom a KCl, ako aj neurogénne kontrakcie mezenterickej tepny boli u ciev z Zucker potkanov väčšie v porovnaní s kontrakciami u WKY, avšak neboli ovplyvnené podávaním SIM a CoQ10. Samotný SIM ani CoQ10 nemali vplyv na endotel-závislú relaxáciu, ale ich kombinácia ju významne zväčšila. To potvrdzuje aj aktivita NOS v aorte, ktorá bola pri kombinácii SIM a CoQ10 významne vyššia ako pri ich samostatnom podávaní.

Záver: Výsledky ukazujú, že u obéznych Zucker potkanov zväčšenie aktivity NOS vyvolané samotným SIM mohlo byť „prekryté“ účinkom sezamového oleja, v ktorom bol SIM rozpustený. Pri kombinácii SIM s CoQ10 došlo k ďalšiemu zvýšeniu aktivity NOS a k zlepšeniu endotelovej funkcie mezenterickej artérie. Táto štúdia predstavuje východzí postup pre použitie koenkapsulácie SIM s CoQ10, ktorý bude viesť k zvýšenej biodostupnosti SIM v cieľových orgánoch pri súčasnom obmedzení jeho vedľajších účinkov.

Podporené grantom VEGA č. 2/0202/16 a grantom Slovenskej kardiologickej spoločnosti

BIOLOGICKÉ FAKTORY AGRESÍVNEHO SPRÁVANIA VODIČOV

Tothova L.^{1,4}, Domonkos E.¹, Sucha M.³, Hodosy J.^{1,4}

¹Ústav molekulárnej biomedicíny, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Bratislava, Slovenská republika, ²Ústav patologickej fyziológie, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Bratislava, Slovenská republika, ³Katedra psychológie, Filozofická fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci, Olomouc, Česká republika, ⁴Fyziologický ústav, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Bratislava, Slovenská republika

Bezpečnostná situácia v doprave sa v posledných rokoch zhoršuje, počet nehôd a počet obetí narastá. Za tieto javy môžu faktory prostredia ako narastajúci počet áut, vodičov či zlá infraštruktúra. Narastajúca frustrácia za volantom tiež vedie k väčšej náchylnosti napríklad na porušovanie pravidiel dopravnej premávky, čo môže viesť k vyššej nehodovosti. I keď agresívni vodiči boli prvýkrát charakterizovaní v roku 1949, nepodarilo sa úplne identifikovať všetky faktory vedúce k vyššej agresivite vodičov. Vek, pohlavie, ako i osobnosť vodiča a celková ochota riskovať ovplyvňujú vo významnej miere agresivitu za volantom, ale nie sú jediné. Z biologických faktorov sa najzaujímavejším javí testosterón. Cieľom našej štúdie bolo preto zistiť na vzorke 150 vodičov, ktorí boli psychologicky vyšetrení v spolupráci s Katedrou psychológie Filozofickej fakulty Univerzity Palackého v Olomouci, či aktuálne alebo prenatálne hodnoty testosterónu môžu pomôcť predikovať agresívne správanie v doprave. Nestimulovanú slinu sme odoberali od každého probanda, po odobratí sa slina zamrazila až do ďalšej analýzy. Prenatálne koncentrácie testosterónu sme vyjadrili skenom ruky a pomerom druhého k štvrtému prstu na dominantnej ruke. Ide o pilotný projekt, ktorého výsledky by mali pomôcť pochopiť vzťah medzi agresivitou a vybranými biologickými faktormi.

Práca bola podporená grantom Agentúry na podporu vedy a výskumu č. APVV-0539-12.

FARMAKOLGICKÉ TESTOVANIE: NIELEN ČO A AKO, ALE AJ KEDY

Valuskova P.¹, Mysliveček J.¹, Farar V.²

¹Fyziologický ústav 1. LF UK; ²Ústav biochemie a laboratorní diagnostiky 1. LF UK, Praha, Česká republika

Úvod: V absolútnej väčšine prípadov, behaviorálne a farmakologické testovanie u laboratórných zvierat akými sú myši ignorujú skutočnosť, že myši sú nočné zvieratá, aktívne v nočnej fáze denného cyklu. Navyše génová expresia, enzýmová aktivita a hladina neuromediátorov podliehajú cirkadiálnym zmenám. V tejto práci sme preto sledovali vplyv vyradenia génu pre M4 muskarínové receptory (MR) na oxotremorínom indukovanú hypotermiu, skopolamínom a kokaínom navodenú hyperlokomóciu v dennej (pasívnej) ako aj v nočnej (aktívnej) fáze myši.

Metodika: Použili sme samice myši dvoch genotypov (C57Bl6/6NTac a M4 KO myši- s vyradeným génom pre M4MR). Myšiam sme implantovali telemetrické sondy (Vital View, Starr Life, USA) a po týždňovej rekonvalescencii bol myšiam aplikovaný buď fyziologický roztok alebo oxotremorín (0.2 mg/kg s.c.) alebo skopolamín (0.5 mg/kg s.c.) alebo kokaín (20 mg/kg s.c.). Testované látky boli aplikované vždy samostatným skupinám myši buď v čase 9:00 alebo v čase 21:00. Pohybovú aktivitu a telesnú teplotu sme zaznamenávali a analyzovali pomocou softwaru ChronoFit.

Výsledky: V súlade s publikovanými dátami, v dennej fáze, kokaínom indukovaná pohybová aktivita bola väčšia u M4 KO myši (347% oproti fyziologickému roztoku) ako u M4 WT myši (202% oproti fyziologickému roztoku). V nočnej fáze však kokaín indukoval hyperlokomóciu u M4 KO myši (198% oproti fyziologickému roztoku) v rovnakej miere ako u WT myši (186% oproti fyziologickému roztoku). Oxotremorínom indukovaná hypotermia je kontrovaná M4 MR taktiež rozdielne v dennej a nočnej fáze, pričom M4 MR prispievajú k oxotremorínom indukovanej hypotermii vo väčšej miere v dennej ako v nočnej fáze. Vyradenie génu pre M4 MR nemalo vplyv na skopolamínom indukovanú pohybovú aktivitu ani v dennej ani v nočnej fáze.

Záver: Fáza denného cyklu má významný vplyv na farmakologickú odpoveď a mala by byť vzatá do úvahy pri dizajne farmakologických experimentov.

Práca bola podporená grantom GAČR 17-03847S, GAUK 480613 a PRVOUK P25

POHLAVNÍ ROZDÍLY V BIORYTMU MOTORICKÉ AKTIVITY U MYŠÍ S VYŘAZENÝMI M4 MUSKARINOVÝMI RECEPTORY

Valuskova P.¹, Farar V.², Myslivecek J.¹

¹Fyziologický ústav 1. LF UK; ²Ústav biochemie a laboratorní diagnostiky 1. LF UK, Praha, Česká republika

Úvod: Motorická aktivita je typickým představitelem fyziologického děje, který se cirkadiánně mění. M4 muskarinové receptory (M4MR) byly na konci minulého milénia definovány jako důležitý hráč v determinaci motorické aktivity, avšak další práce tento význam zpochybnily či omezily na pouze krátká časová období. Proto jsme použili telemetrického sledování k určení významu M4MR v motorické aktivitě.

Metodika: Použili jsme 60 myší (30 samců a 30 samic) dvou genotypů (C57Bl6/6NTac a M4 KO myší - s vyřazeným genem pro M4MR). Jim jsme implantovali telemetrické sondy (Vital View, Starr Life, USA), ponechali je týden v rekonvalescenci po výkonu a poté sledovali a analyzovali motorickou aktivitu a teplotu za použití softwaru ChronoFit.

Výsledky: Biorytmické parametry motorické aktivity se lišily u samců a samic. Zatímco u samců se efekt vyřazení M4MR prakticky neprojevil, u samic došlo k výraznému nárůstu pohybové aktivity během tmavé, tj. aktivní fáze. Stejně tak se lišily i parametry biorytmu: mesor byl u KO myší zvýšen na 191% hodnot u WT myší, průměr nočních hodnot byl dvojnásobný a dvojnásobná byla i amplituda 24-, 12-, 8-, 6- a 4.8hodinového rytmu. Biorytmus teploty se mezi M4 KO a WT u obou pohlaví nelišil, i když i zde existovaly rozdíly mezi pohlavími (WT samice vs. WT samci a KO samice vs. KO samci).

Závěr: Naše výsledky ukazují, že M4MR regulují specificky biorytmus motorické aktivity ale neovlivňují biorytmus tělesné teploty. V obou biorytmických parametrech jsme prokázaly pohlavní rozdíly.

Práce byla podpořena grantem GAČR 17-03847S a grantem GAUK 328314.

MELATONÍNĽOVÁ PROTEKCIA PRI POŠKODENÍ SRDCA VYSOKOU DÁVKOU ADRENALÍNU

Važan R.¹, Drábek R.¹, Ravingerová T.²

¹Fyziologický ústav, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského; ²Ústav pre výskum srdca, Slovenská akadémia vied, Bratislava, Slovenská republika

Adrenalin vo vysokých dávkach vykazuje kardiotoxicitu spojenú s nadmernou tvorbou voľných radikálov. Hormón melatonin je aj antioxidantom a vychytávačom voľných radikálov s kardioprotektívnymi vlastnosťami. V našej štúdií sme na izolovanom srdci potkana skúmali kardioprotektívne účinky melatonínu voči kardiotoxicite adrenalinu. U melatonínovej skupiny srdce bol melatonin (50 mmol/l) prítomný v perfúznom roztoku počas celého experimentu. U kontrolnej skupiny srdce perfúzny roztok melatonin neobsahoval. Po 30 minútach iniciálnej perfúzie bol obom skupinám priamo do perfúznej kanyly srdca podávaný adrenalin počas 2 minút, čo viedlo k silnej stimulácii srdca. Vyhodnocovali sme zmeny vo funkcii srdca a v arytmogenéze pred aplikovaním adrenalinu a po ústupe jeho akútnych účinkov. Počas iniciálnej perfúzie pred aplikáciou adrenalinu neboli medzi skupinami pozorované žiadne významné rozdiely. Avšak, v 15. a 20. minúte po aplikácii adrenalinu boli indexy komorovej kontraktility a relaxácie významne vyššie u melatonínovej skupiny. Podobne aj hodnoty tlaku vyvinutého ľavou komorou boli v 15. minúte významne vyššie u tejto skupiny srdca. Zistené rozdiely poukazujú na lepšie zachovanie kontrakcie a relaxácie srdca u skupiny s melatoninom. Parametre arytmogenézy (arytmické skóre, incidencia a celkové trvanie vážnych komorových arytmií) neboli signifikantne rôzne medzi experimentálnymi skupinami ani po podaní adrenalinu. Avšak ich výrazne nižšie priemerné hodnoty u melatonínovej skupiny srdca naznačujú zníženie adrenalinom navodenej elektrickej nestability myokardu. Získané údaje potvrdzujú kardioprotektívne účinky melatonínu a doplňujú mozaiku informácií, ktorá môže v budúcnosti viesť k využitiu melatonínu ako terapeutického nástroja.

Práca bola podporená grantom VEGA 2/0201/12 a APVV-0102-11.

VLIV AERUGINOSINU-865 A KAPSAICINU NA MYŠÍ BUNĚČNÉ KULTURY FIBROBLASTŮ

Veselá I., Kuchařová V., Repková B., Rapekta P., Bíliková P., Celá P., Doubek J.

Ústav fyziologie, Fakulta veterinárního lékařství, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Česká republika

Úvod: Aeruginosin-865 je tetrapeptid izolovaný z cyanobakterií rodu *Nostoc*, u kterého byl doposud jako u jediného sekundárního metabolitu cyanobakterií prokázán antiinflamatorní účinek. Tento efekt je zprostředkován mechanismem inhibice signální dráhy NF-kB. Kapsaicin je přírodní alkaloid produkovaný rostlinami rodu *Capsicum*, u nějž byla popsána mimo jiných funkcí také role v protizánětlivé odpovědi. Naším cílem bylo stanovení vlivu Aeruginosinu-865 a kapsaicinu na vybrané buněčné parametry *in vitro*.

Metodika: Pro experimenty byly použity myšší buněčné linie normálních NIH/3T3 (ATCC® CRL-1658™) a nádorových fibroblastů WEHI-13VAR (ATCC® CRL-2148™), které byly kultivovány za přesně definovaných podmínek - živné médium (MEM/RPMI), 10% FBS, penicilin, streptomycin a inkubovány v 5% atmosféře CO₂. Aeruginosin-865 a kapsaicin byly aplikovány paralelně na oba typy buněk v různých koncentracích a časových intervalech dle typu experimentu. Byla stanovena viabilita buněk (MTT cell proliferation assay kit, Trevigen), poměr apoptotických a nekrotických buněk (Dead cell apoptosis kit with annexin V and propidium iodide, Life Technologies), dále byla detekována aktivita kaspázy-3 (Caspase-3 assay kit, Life technologies) a volných radikálů (Total ROS/superoxide detection kit, Enzo). Jednotlivé testy byly prováděny dle instrukcí výrobce.

Výsledky: Bylo zjištěno, že se zvyšující se koncentrací Aeruginosinu-865 dochází po 24 hod k výraznější inhibici růstu u WEHI-13VAR (viabilita 56 %, 250mM Aeruginosin-865) v porovnání s NIH/3T3 (viabilita 87 %, 250mM Aeruginosin-865). U kapsaicinu byl tento rozdíl ještě výraznější - 75% viabilita u NIH/3T3 ve srovnání s úplnou inhibicí růstu v případě WEHI-13VAR. Po působení kapsaicinu byl pozorován výrazný nárůst apoptózy u NIH/3T3 a nekrózy u WEHI-13VAR. Vliv Aeruginosinu-865 na formu buněčné smrti a na zvýšení aktivity kaspázy-3 nebyl doposud prokázán ani u jedné buněčné linie. Současně Aeruginosin-865 neovlivňoval produkci ROS ani SO, zatímco kapsaicin indukoval pouze mírný nárůst produkce SO u normálních i nádorových fibroblastů.

Závěr: Se zvyšující se koncentrací Aeruginosinu-865 a kapsaicinu dochází k výraznější inhibici růstu u buněk nádorových. Mechanismus působení u Aeruginosinu-865 nebyl doposud zcela objasněn a je třeba dalších navazujících experimentů.

Práce byla podpořena grantem IGA VFU Brno 109/2016/FVL.

ÚČASŤ MYOKARDIÁLNEHO KONEXÍNU-43 V KOMPENZAČNEJ ODPOVEDI SRDCA NA AKÚTNE POŠKODENIE U WISTAR POTKANA

Viczenczová C.¹, Kura B.¹, Chaudagar KK.², Szeiffová Bačová B.¹, Egan Benová T.¹, Barančík M.¹, Knezl V.³, Ravingerová T.¹, Slezák J.¹, Tribulová N.¹

¹Ústav pre výskum srdca, SAV, Bratislava, Slovenská republika; ²L. M. College of Pharmacy, Ahmedabad, India; ³Ústav experimentálnej farmakológie a toxikológie, SAV, Bratislava, Slovenská republika

Úvod: Konexínové kanály spájajúce susedné kardiomyocyty zabezpečujú prenos elektrických a molekulárných signálov v myokarde a tým koordinovanú činnosť srdca. Rôzne patofyziologické stavy sú sprevádzané zmenami konexinu-43 (Cx43), ktoré zvyšujú riziko vzniku malígnych arytmií a kontraktilnej dysfunkcie. Cieľom štúdie bolo preskúmať predpokladanú účasť Cx43 v kompenzačnej odpovedi srdca na jeho akútne poškodenie ako aj zistiť možné zmeny proteín kinázy C-ε (PKCε), ktorá fosforyluje Cx43, a matrix metaloproteinázy-2 (MMP-2), ktorá môže ovplyvniť medzibunkovú adhéziu a tým komunikáciu Cx43 kanálmi.

Metodika: Použili sa dva modely akútneho poškodenia srdca Wistar potkana: jednorázová radiácia hrudníka subletálnou dávkou 25 Gy a subkutánna aplikácia izoproterenolu (ISO) v subletálnej dávke 120 mg/kg. Následne boli potkany prechovávané v štandardných podmienkach počas 42 dní. Z anestézovaných zvierat sa odobrali srdcia a ľavá komora bola použitá na Western blot analýzu expresie Cx43, PKCε a MMP-2 ako i jej aktivity. Zmeny v lokalizácii Cx43 sa sledovali in situ imunodetekciou. Funkčné parametre sa testovali na izolovanom srdci podľa Langendorffa.

Výsledky: Expresia celkového aj fosforylované (funkčného) Cx43 bola zvýšená u oboch modelov 42 dní po intervencii. Zvýšená fosforylácia Cx43 bola doprevádzaná zvýšenou expresiou PKCε. V srdciach po akútnom poškodení boli tiež zistené zmeny v topológii Cx43. Okrem normálnej lokalizácie na póloch kardiomyocytov bola zvýšená imunopozitivita Cx43 na laterálnych stranách kardiomyocytov. V srdciach po ISO bol okrem toho Cx43 neprítomný v miestach zvýšeného výskytu depozít kolagénu. Aktivita MMP-2 bola po iradiácii zvýšená a po ISO znížená. Funkcia srdca u oboch modelov akútneho poškodenia nebola zhoršená v porovnaní s kontrolami. Srdcia po ožiarení mali zvýšenú ischemickú toleranciu a srdcia po ISO boli náchylné na malígne arytmie rovnako ako kontrolné.

Záver: Výsledky poukazujú na účasť Cx43 v kompenzačnej odpovedi srdca na akútne poškodenie, pričom jeho up-regulácia sa veľmi pravdepodobne podieľa na zachovaní jeho funkcie.

Práca bola podporená grantami VEGA 0076/16, 0167/15, APVV 15-0376 a 0348/12.

OCHORENIA PEČENE A LIEČBA KMEŇOVÝMI BUNKAMI V EXPERIMENTE

Vidová Ugurbas M.¹, Kaťuchová J.², Petrášová D.³, Radoňak J.²,

¹*Klinika plastickej, rekonštrukčnej a estetickej chirurgie UN LP, Košice;* ²*I.Chirurgická klinika UN LP, Košice;* ³*Laboratórium výskumných biomodelov LF UPJŠ, Košice, Slovenská republika*

Úvod: Práca je venovaná súčasnej úrovni vedeckého poznania a možnostiam klinickej aplikácie kmeňových buniek.

Cieľ: Cieľom práce je poukázať na možnosť využitia kmeňových buniek na stimuláciu regenerácie pečene. Pozorovať adaptáciu kmeňových buniek v novom prostredí a ich prestup anatomickými štruktúrami.

Metodika: Do experimentu sme zaradili 40 samcov, potkanov rodu Sprague Dawley (SD) vo veku 10 až 12 týždňov, ktoré sme rozdelili do piatich skupín v rovnakom počte (n=8). Prvú skupinu tvorila kontrolná vzorka zdravých potkanov, druhú skupinu tvorilo 8 potkanov po resekcii pečene bez transplantácie kmeňových buniek. Tretiu skupinu tvorili potkany po resekcii a transplantácii kmeňových buniek, štvrtú skupinu tvorili potkany po poškodení pečene pomocou TAA a poslednú piatu skupinu tvorili potkany po poškodení TAA a aplikácii kmeňových buniek. V priebehu experimentu sme sledovali zmeny laboratórnych hodnôt ALT, bilirubínu a albumínu. Na základe týchto zmien v pozorovaných hodnotách sme porovnali jednotlivé skupiny experimentálnych zvierat. Použité boli histopatologické a štatistické analýzy.

Výsledky: Pokusom sme zistili, že u zvierat v skupine 3 a 5 došlo k štatisticky významnému poklesu bilirubínu a ALT po aplikácii kmeňových buniek v porovnaní so skupinami, u ktorých sme kmeňové bunky neaplikovali. Elektronovým mikroskopom sme pozorovali prestup mezenchymálnych kmeňových buniek z miesta aplikácie do miesta ich pôsobenia a diferenciácie.

Záver: Transplantácia kmeňových buniek môže poskytnúť účinnú liečbu a stimulovať regeneráciu pečene resp. dostatočne regenerovať pečeň pred a po radikálnej resekcii.

VPLYV SYNBIOTÍK NA HLADINY POHLAVNÝCH HORMÓNOV A INZULÍNU PODOBNÉHO RASTOVÉHO FAKTORA I (IGF-I) V KRVI ODSAVČIAT

Vlčková R., Andrejčáková Z., Sopková D.

Ústav fyziológie Univerzity veterinárskeho lekárstva a farmácie, Košice, Slovenská republika

Úvod: Odstav prasiatok je sprevádzaný zvýšeným výskytom infekčných ochorení tráviaceho traktu. Jednou z možností prevencie a terapie týchto ochorení je aplikácia probiotických kultúr v kombinácii s prebiotikami (tzv. synbiotiká). Ich vplyv na reprodukciu juvenilných zvierat však nie je dostatočne prebádaný. Preto cieľom tejto práce bolo zistiť efekt skrmovania probiotík a ľanového semena odstavčatám na hladiny pohlavných steroidných hormónov a IGF-I v krvi.

Metodika: Pred pokusom bola v chove potvrdená prítomnosť enterotoxigénnej *E. coli* a koronavírusu. Suplementácia mliečnej diéty začala 10 dní pred odstavom. V čase odstavu boli prasiatka kŕmené zmesou OŠ-02 pre skorý odstav. Diéta kontrolných zvierat bola suplementovaná kontrolným syrom (bez pridaných probiotických kultúr), 8 g/kus/deň. V pokusnej skupine bola diéta suplementovaná drveným ľanovým semenom v 10% koncentrácii a probiotickým syrom (probiotická kultúra *L. plantarum* – Bioceno!™ LP96 a *L. fermentum* – Bioceno!™ LF99; 1×10^9 CFU/g syra), 4 g/kus/deň pre každý syr. Na 0., 7. a 14. deň odstavu bola samiciam odobratá krv z očného splavu na analýzu hormónov komerčnými súpravami pre RIA (progesterón, 17β -estradiol), CMIA (testosterón) a IRMA (IGF-I) metódu. Rozdiely medzi skupinami v daný deň odstavu boli hodnotené t-testom a časové rozdiely v skrmovaní v rámci danej skupiny boli hodnotené testom Repeated measures ANOVA.

Výsledky: Suplementácia diéty synbiotikami mala pozitívny vplyv na hladinu IGF-I na 0. ($P < 0,05$) a 14. ($P < 0,01$) deň odstavu v porovnaní s kontrolou. Výraznejší vplyv tejto suplementácie na hladiny progesterónu, 17β -estradiolu a testosterónu oproti kontrole ani vplyvom dĺžky skrmovania nebol zaznamenaný.

Záver: Suplementácia diéty probiotikami a ľanovým semenom nemá vplyv na hladiny steroidných hormónov, ale zvyšuje hladinu IGF-I v krvi, ktorá môže pozitívne vplývať na folikulogézu samíc odstavčiat.

Práca bola podporená grantom Ministerstva školstva, vedy, výskumu a športu SR (VEGA č.1/0476/16 a IGA č. 15/2016).

EXTRACELULÁRNA DNA PRI INTRAHEPATÁLNEJ CHOLESTÁZE V TEHOTENSTVE

Vlková B.¹, Kalousová M.⁴, Celec P.^{1,2,3}

¹Ústav molekulárnej biomedicíny, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava, Slovenská republika, ²Ústav patologickej fyziológie, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava, Slovenská republika, ³Katedra molekulárnej biológie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava, Slovenská republika, ⁴Ústav lekárskej biochémie a laboratórnej diagnostiky Všeobecnej fakultnej nemocnice a 1. lekárskej fakulty, Karlova univerzita, Praha, Česká republika

Úvod: Extracelulárna DNA (ecDNA) je rutinne analyzovaná v neinvazívnej prenatalnej diagnostike, ale hrá dôležitú úlohu aj pri patogenéze autoimunitných chorôb, keďže ako signál poškodenia tkanív indukuje zápal. Nedávno bolo experimentálne potvrdené, že najmä jej mitochondriálna frakcia pôsobí hepatotoxicky. Pôvod vyššej cirkulujúcej ecDNA pri intrahepatálnej cholestáze v tehotenstve nie je známy.

Metodika: Vo vzorkách plazmy od tehotných žien v III. trimestri s poškodením pečene v dôsledku intrahepatálnej cholestázy (n = 15) a od porovnateľných kontrol (n = 19) bola analyzovaná celková plazmatická ecDNA pomocou prístroja Qubit. Jadrová a mitochondriálna frakcia ecDNA boli charakterizované z hľadiska fragmentácie a kvantifikované pomocou PCR.

Výsledky: V porovnaní so zdravými kontrolami majú ženy s intrahepatálnou cholestázou v tehotenstve dvakrát viac jadrovej ecDNA v plazme (336±259 GE/ml vs. 722±551 GE/ml; p<0,05). V mitochondriálnej frakcii neboli zistené významné rozdiely medzi skupinami. Fyzická separácia fragmentov kratších a dlhších ako 200 bp ukázala, že koncentrácie sa medzi skupinami líšia v krátkych a nie v dlhších fragmentoch.

Záver: V štúdií sme identifikovali kvantitatívne i kvalitatívne rozdiely v ecDNA u žien s intrahepatálnou cholestázou pečene. Najmä vyšší stupeň fragmentácie jadrovej ecDNA by mohol poukazovať na úlohu ecDNA pri indukcii sterilného zápalu a poškodenia pečene. Či je pozorovaná asociácia kauzálna, môže byť preukázané iba prostredníctvom intervenčných experimentov a podrobnou analýzou pôvodu ecDNA.

EXPRESIA miRNA V KOLOREKTÁLNO M KARCINÓME ČLOVEKA

Voglová K.¹, Bezáková J.¹, Vicián M.², Reis R.², Zeman M.¹, Herichová I.¹

¹*Katedra živočíšnej fyziológie a etológie, Prírodovedecká fakulta UK;* ²*Nemocnica Staré Mesto, I. chirurgická klinika Lekárskej fakulty Univerzity Komenského a Univerzitnej nemocnice, Bratislava, Slovenská republika*

miRNA sú malé nekódujúce molekuly RNA, ktoré sú produkované vo forme duplexu z dvoch vlákien odvodených z konca 3p alebo 5p, pričom jedno vlákno vykazuje fyziologickú aktivitu v podobe represie génovej expresie a druhé vlákno zvané aj sesterské je vo väčšine prípadov degradované. V novších štúdiách sa však čoraz častejšie potvrdzuje koexistencia oboch vlákien. miRNA boli z dôvodu zmenených hladín expresie v karcinómoch a plazme navrhnuté ako potenciálne biomarkery nádorových ochorení. V našej práci sme sa rozhodli porovnať expresiu miR-21-5p a miR-21-3p v kolorektálnom karcinóme človeka.

V štúdií bolo použité tkanivo pacientov s diagnózou kolorektálny karcinóm odobraté počas operačných zákrokov. Všetci pacienti podpísali informovaný súhlas. Na analýzu sme použili tkanivo z nádoru, proximálneho úseku čreva (min. 10 cm nad nádorom) a distálneho úseku čreva (2 cm pod nádorom). Zo vzoriek bola vyizolovaná miRNA a stanovená expresia miR-21-5p, miR-21-3p pomocou real time PCR.

Expresia miR-21-5p bola zvýšená v tkanive nádoru pri porovnaní s príľahlým tkanivom. Pri porovnaní oboch vlákien duplexu sme pozorovali znížené hladiny miR-21-3p vo všetkých analyzovaných tkanivách. Sesterské vlákno miR-21-3p aj napriek zníženým hladinám expresie vykazovalo podobne zvýšené hladiny v nádore ako miR-21-5p v porovnaní s príľahlými tkanivami. Expresia oboch vlákien vysoko signifikantne pozitívne korelovala. Po rozdelení pacientov podľa pohlavia sme pozorovali výrazné trendy k zvýšenej expresii oboch vlákien miR-21 u mužov v porovnaní s expresiou u žien.

Potvrdili sme zmenené hladiny miR-21-5p v nádore pričom sa nám podarilo detekovať podobné zmeny expresie aj v prípade miR-21-3p. Ďalšie analýzy by sa mali venovať validácii výsledkov expresii miRNA v nádoroch, pričom bude pozornosť zameraná na pohlavné rozdiely v expresii miRNA.

Tento príspevok vznikol s podporou grantov: VEGA 1/0499/15, APVV-0291-12, APVV-14-0318

ÚLOHA MITOCHONDRIÁLNEJ DNA V ETIOLÓGII AUTIZMU

Vokálová L.¹, Borbélyová V.², Domonkos E.², Ahmed T.², Ostatníková D.¹, Celec P.^{2,3,4}

¹Fyziologický ústav, Lekárska fakulta, ²Ústav molekulárnej biomedicíny, Lekárska fakulta, ³Ústav patologickej fyziológie, Lekárska fakulta, ⁴Katedra molekulárnej biológie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava, Slovenská republika

Úvod: Príčiny vzniku autizmu sú neznáme. Štúdie poukázali na asociáciu medzi rizikom pre autizmus a infekciami, ale i preeklampiou, či lupusom, čiže zápalovými stavmi počas gravidity. Pri zápale sa uvoľňuje do extracelulárneho priestoru aj mitochondriálna DNA (mtDNA). Keďže je štrukturálne podobná bakteriálnej DNA, extracelulárna mtDNA je schopná navodiť imunitnú reakciu, ktorá môže viesť až k stavom klinicky pripomínajúcim sepsu. Cieľom našej práce je objasniť dôsledky aktivácie vrodenej imunity extracelulárnymi nukleovými kyselinami a ich potenciálnu úlohu v etiopatogenéze autizmu.

Metodika: V troch nezávislých experimentoch sme aplikovali bakteriálny lipopolysacharid neonatálnym myšiam v 10. a 12. postnatálny deň a mtDNA tehotným samiciam v 12. – 14. deň gravidity. U potomstva bola následne testovaná sociabilita.

Výsledky: Neonatálny lipopolysacharid nespôsobil behaviorálne zmeny v prepubertálnom veku. Prenatálna expozícia mtDNA nespôsobila morfológické ani behaviorálne zmeny u potomstva.

Záver: Indukcia zápalu v prenatálnom ako aj v skorom postnatálnom období neviedla k vzniku autistického správania u myší. V ďalších experimentoch sa zameriame na iné možné zdroje mtDNA ako je poškodenie pečene a obličiek, ako aj na iné obdobia vývinu mozgu, ktoré by mohli byť kľúčové pre vznik autizmu.

Práca bola podporená grantom VEGA 1/0052/15 a APVV-15-0045.

VNÍMÁNÍ BOLESTI U OSOB S ČETNÝMI TĚLESNÝMI MODIFIKACEMI

Yamamoto A., Hrabák P., Hříbek P., Rokyta R.

Univerzita Karlova, 3. lékařská fakulta, Ústav normální, patologické a klinické fyziologie, Praha, Česká republika

Úvod: Statistiky posledních let poukazují na rostoucí počet osob, které se záměrně sebepoškozují. Rovněž stoupá počet těch, kteří se v důsledku módní vlny nechávají tetovat a opakovaně se podrobují bolestivým zákrokům spojených s piercingem, skarifikací či brandingem. Osoby se sebepoškozováním často uvádějí, že bolest při sebezraňování nepocítují. Naproti tomu o vnímání bolesti návštěvníků tetovacích salonů a piercingových studií nejsou k dispozici žádné informace. Testovali jsme hypotézu, že osoby s tělesnými modifikacemi budou na bolest méně vnímavé.

Metodika: Cílem studie bylo porovnat nocicepční citlivost u čtyř skupin osob ($n = 106$, průměrný věk 24 – 28 let, 49 žen a 58 mužů) s různou motivací k prožitku bolesti (bez četných tělesných modifikací a s nimi) ve dvou rozdílných situacích – v kontrolních podmínkách nebo na „Hell Party“, tj. akci pořádané piercingovými a tetovacími salony, jejíž hlavní součástí bylo veřejné předvádění bolestivých technik (včetně vypalování jizev, věšení na háky apod.). K měření prahů bolesti na prstech ruky byl použit tepelný stimulátor a mechanický algometr (Somedic). Jako intervenující proměnné byly použity údaje o sebepoškozování, psychiatrické léčbě, užití návykových látek.

Výsledky: Skupiny se významně lišily v tepelném prahu bolesti ($p < 0.00001$), ne však v prahu mechanické bolesti ($p = 0.65$). Obě skupiny měřené na „Hell Party“ (s tělesnými modifikacemi i bez nich) měly vyšší prahy bolesti než shodné skupiny měřené v kontrolních podmínkách.

Závěr: Neprokázali jsme, že osoby s četnými tělesnými modifikacemi jsou vůči bolesti více odolné. Zvýšený práh bolesti u účastníků Hell party nelze vysvětlit pouze oslabeným sensorickým vnímáním bolesti, protože i skupina bez tělesných modifikací, měřená ve stejném prostředí, měla obdobně zvýšený práh bolesti. Na základě výsledků předpokládáme, že podstatný vliv hrálo prostředí ovlivňující afektivní a kognitivní komponentu bolesti.

Práce byla podpořena projektem PRVOUK P34

APLIKÁCIA MOLEKULOVÉHO VODÍKA ZLEPŠUJE OCHRANNÝ ÚČINOK HYPOXICKÉHO POSTCONDITIONINGU VOČI ISCHEMICKO-REPERFÚZNEMU POŠKODENIU SRDCA

Zálešák M., Graban J., Kura B., Pancza D., Ravingerová T., Slezák J.

Ústav pre výskum srdca, Slovenská akadémia vied, Bratislava, Slovenská republika

Úvod: Obnova koronárneho prietoku a dodávky kyslíka do myokardu počas prvých minút po ischémii je spojená s rizikom ischemicko-reperfúzneho (I/R) poškodenia srdca. Hypoxický postconditioning (HpostC) aplikovaný počas tohto kritického obdobia reperfúznej terapie spočíva v postupnej obnove dostupnosti kyslíka na zabránenie oxidačného poškodenia myokardu. Podobne antioxidant pôsobí molekulový vodík (H₂), považovaný za selektívny antioxidant, ktorý nenaruša fyziologickú tvorbu voľných radikálov v metabolizme srdca.

Cieľ: Cieľom štúdie bolo vyhodnotiť, či aplikácia molekulového vodíka zlepší ochranný účinok HpostC voči I/R poškodeniu srdca.

Metodika: Experimenty sa uskutočnili na izolovaných srdciach potkanov perfundovaných Krebs-Henseleitovým roztokom (KH) a vystavených 30 min globálnej ischémii/120 min reperfúzii - I/R. HpostC bol navodený po 30 min ischémii sériou 4 cyklov 1 min perfúzie neokysličeným KH oddelených 1 min cyklami perfúzie KH nasýteným s O₂/CO₂ pred 120 min reperfúziou KH nasýteným s O₂/CO₂. H₂ sa aplikoval v rámci HpostC, keď neokysličený KH bol saturovaný s H₂ (H₂+HpostC). Závažnosť I/R poškodenia srdca sa hodnotila na základe určenia rozsahu infarktu v rizikovej oblasti myokardu (IS/AR), vyhodnotením obnovy funkčných parametrov (LVDP-obnova tlaku vyvinutého ľavou komorou, LVEDP-koncovodiastolický tlak ľavej komory) a reperfúzných arytmií.

Výsledky: HpostC významne znížil IS/AR (24,6±0,9% vs. 38,7±1,4% v I/R), počet epizód komorových tachykardií (3,33±1,47 vs. 19,75±6,92 v I/R), LVEDP (22,1±6,8 mmHg vs. 54,7±7,2mmHg v I/R). Aplikácia H₂ znížila IS/AR (16,7±0,8% vs. 24,6±0,9% v HpostC) a zlepšila obnovu LVDP (62±12% vs. 23±3,6% v I/R).

Záver: Aplikácia H₂ zlepšila obnovu funkcie srdca vystavených HpostC a antiinfarktový účinok HpostC.

Práca bola podporená grantami: VEGA 2/0201/15, 2/0021/15, 2/0133/15, APVV-0102-11, APVV-0241-11, APVV-15-0376, APVV-15-0119.

ÚLOHA OXYTOCÍNOVÉHO RECEPTORA V REGULÁCIÍ EXPRESIE SYNAPTICKÝCH PROTEÍNOV

Zaťková M.^{1,2}, Lešťanová Z.¹, Reichová A.¹, Bačová, Z.^{1,3}, Bakoš J.^{1,2}

¹Ústav experimentálnej endokrinológie, Biomedicínske centrum, SAV, Bratislava, ²Fyziologický ústav, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava, ³Ústav patologickej fyziológie LF, SZU, Bratislava, Slovenská republika

Úvod: Vznik synaptických spojení si vyžaduje štruktúrnu reorganizáciu cytoskeletových proteínov na presynaptickej aj postsynaptickej membráne. V súčasnosti je už známe, že lokálne procesy na membránach ovplyvňujú viaceré neuroendokrinné faktory a hormóny. V našom laboratóriu sme v minulosti dokázali, že sa neuropeptid oxytocín a jeho receptor podieľa na raste neuritov in vitro. V nadväznosti na predchádzajúce štúdie bolo cieľom prezentovanej práce vyhodnotiť vplyv antagonistov oxytocínových receptorov na rast neuritov a na génovú expresiu vybraných neurexínov.

Metodika: Rast neuritov bol hodnotený vizualizáciou aktínu pomocou softvéru Image J. Génová expresia neurexínov a navigačných molekúl bola hodnotená pomocou qPCR. SH-SY5Y bunky boli inkubované v prítomnosti oxytocínu, atosibanu a antagonistu oxytocínového receptora (L-371,257) a ich kombinácie 48 hodín. V osobitnom experimente bol hodnotený účinok oxytocínu, L-371,257 a ich kombinácie na rast neuritov u primárnych neurónov izolovaných z neonatálnych myší.

Výsledky: Podanie oxytocínu viedlo k predĺženiu neuritov u SH-SY5Y buniek ako aj primárnych neurónov, pričom inhibícia oxytocínových receptorov prostredníctvom L-371,257 tento nárast signifikantne zmenšila. U SH-SY5Y buniek oxytocín signifikantne zvýšil mRNA pre neurexín 2a, neurexín 2b. Žiadna zmena nebola pozorovaná pre neurexín 1a a neurexín 3a. Kombinácia podania atosibanu a oxytocínu prekvapivo zvýšila mRNA pre neurexín 2b. Použitie atosibanu nezablokovalo nárast neurexínu 2b. L-371,257 zablokovalo nárast expresie neurexínu 2a a 2b čo poukazuje na rozdiel v jeho regulácii vzhľadom na vyššiu väzbovosť L-371,257 ku oxytocínovým receptorom.

Záver: Aktivácia oxytocínových receptorov má funkčné dôsledky na rast neuritov a pravdepodobne aj na tvorbu synapsií podmienenú adhéziou niektorých neurexínov.

Práca bola podporená grantami: APVV-15-0205, VEGA 2/0119/15 a VEGA 2/0016/16.

PATIENTS WITH RENAL FAILURE: DIALISATION ACCES AND KIDNEY TRANSPLANTATION

Zavacká M.¹, Zavacký P.², Pobehová J.¹, Petrášová D.³, Štefanič P.¹

¹VÚSCH a.s., Clinic of Vascular Surgery, LF UPJŠ, Ondavská 8, Košice, ²I. Clinic of Surgery, UNLP, LF UPJŠ, Tr. SNP 1, Košice, ³Laboratory of research Bio-models, LF UPJŠ, Tr. SNP 1, Košice

Introduction: The most common diagnosis leading to renal failure are: diabetic nephropathy, nephritis - 16% and the third most common diagnosis leading to dialysis is nephrosclerosis - 10-12% of cases. Patients with chronic renal insufficiency have two options of treatment: kidney transplant and regular dialysis (hemodialysis or peritoneal dialysis). The performance of hemodialysis is the most important arterial venous connection, thereby changing the origin of physiological conditions that lead progressively to vascular remodeling and living its arterialisation. This enables repeated punctures should be connected to a short circuit on hemodialysis device. Serious pitfalls properly functioning fistula is the technique of operation. Other causes may be intraoperative and postoperative complications: bleeding, thrombosis, infection, neuropathy.

Kidney transplantation is a treatment method that medically the most complex replaces the function of authority when irreversible failure. Organ transplants require above all a technique of vascular anastomosis is surgical connection of blood vessels. The first kidney transplant was made in the Czechoslovakia in Hradec Králové (1961). The transplant program of the Transplantation center in Košice is dated from 1986.

Methods: The grafts with anatomical variations are still a challenge for surgeons. Our group consisted of 457 patients who underwent a kidney transplant (from a living or dead donor) with a mean age of 47.92 (\pm 12.22) years. The largest group were patients aged 51-60 years. In our group it was by doing plastic artery in 22.3% (102) of the patients and individually sewn artery- 5.5% (25), on the target- 9.4% (43) and 7.4% (34) sculpture was realized as implantation pole renal arteries to the main trunk.

Results: The link type of surgical intervention, gender or age at risk for delayed onset or the onset of graft function failure, we confirmed. On the other hand, longer cold ischemia time was statistically associated with the onset of graft function. Patients with transplantation with cold ischemia time more than 12 hours had a 2 and a half times more chance (OR = 2.49 / CI: 1.50 to 4.13) delayed onset or failure of graft function compared to those with cold ischemia time was less than 12 hours.

Conclusion: The standardization of surgical techniques, improved immunosuppressive therapy, organ preservation and antimicrobial treatment significantly improved graft function, improve quality of life and reduce the risk morbidity, mortality as well as respondents.

FOS IMUNOREAKTIVITA V ROSTRÁLNEJ MIGRAČNEJ DRÁHE A V PRIĽAHLÝCH MOZGOVÝCH ŠTRUKTÚRACH PO ČUCHOVEJ DEPRIVÁCII JUVENILNÉHO POTKANA

Závodská M., Fabiánová K., Martončíková M., Arnoulová P., Angelidis S., Račeková E.
Neurobiologický ústav SAV, Šoltésovej 4-6, 040 01 Košice, Slovenská Republika

Úvod: Neuronálne progenitory, z ktorých postnatálne vznikajú nové neuróny v bulbus olfactorius (BO), do svojej cieľovej štruktúry migrujú cez sieť tangenciálnych dráh – tzv. rostrálnej migračnej dráhy (RMS). Táto dynamická dráha proliferujúcich neuroblastov je vtesnaná medzi statické mozgové štruktúry po celej svojej dĺžke. RMS vychádza z anteriórneho cípu laterálnej komory a smeruje ventrálne, obklopená striatom a corpus callosum a čiastočne kôrou. V časti pedunculus olfactorius sa zatača rostrálne, obklopená nucleus olfactorius anterior (NOA) a pokračuje až do subependymovej vrstvy BO. Reťazce migrujúcich buniek sú oddelené od okolitého tkaniva výbežkami gliových buniek a špecificky usporiadané krvné cievy tu tvoria akýsi migračný skelet. Napriek takejto ohraničenosti RMS, výsledky morfológických štúdií naznačujú isté prepojenie RMS s okolitým tkanivom mozgu za fyziologických aj patologických podmienok. Na základe týchto poznatkov sme sa v našom experimente zamerali na sledovanie účinku krátkodobej čuchovej deprivácie na tvorbu Fos proteínu v RMS a v priľahlých štruktúrach mozgu potkana počas prvého mesiaca po narodení.

Metodika: Na vyvolanie čuchovej deprivácie sme použili model odlúčenia mláďat od matky. Mláďatá vo veku 7 dní (P7), 14 dní (P14) a 21 dní (P21) sme na dobu 2 hodiny oddelili od matky. Po uplynutí deprivácie sme kontrolné, ako aj experimentálne zvieratá v hlbokjej narkóze transkardiálne prepláchli a sagitálne rezy mozgu sme imunohistochemicky spracovali pomocou protilátky proti Fos. Pre zistenie fenotypu Fos pozitívnych buniek sme použili dvojité imunofluorescenčné značenie pomocou markera zrelých neurónov – NeuN alebo markera astrocytov – GFAP.

Výsledky: V RMS P7, P14 a P21 kontrolných zvierat sa nenachádzali žiadne Fos pozitívne bunky a ani vystavenie čuchovej deprivácii nevyvolalo Fos expresiu v migračnej dráhe u žiadnej s nami pozorovaných vekových skupín. Signifikantný nárast Fos produkujúcich buniek sme zaznamenali v niektorých mozgových štruktúrach obklopujúcich RMS a to predovšetkým v NOA deprimovaných zvierat všetkých vekových skupín. Dvojité imunoznačenie v tejto štruktúre ukázalo kolokalizáciu c-Fos s NeuN, nie však s GFAP, čo naznačuje selektívnu expresiu c-Fos v neurónoch a nie v astrocytoch.

Záver: Naše výsledky naznačujú, že mozgové štruktúry obklopujúce RMS sú viac citlivé na stresové stimuly ako samotná neurogénna oblasť.

Práca bola podporená grantmi VEGA 2/0159/17 a VEGA 2/0069/15.

VPLYV PERIVASKULÁRNEHO TUKOVÉHO TKANIVA NA ADRENERGICKÉ KONTRAKCIE MEZENTERICKEJ ARTÉRIE U NORMOTENZNÝCH A HYPERTENZNÝCH POTKANOV S NADMERNÝM PRÍJMOM FRUKTÓZY

Zemančíková A., Török J.

Ústav normálnej a patologickej fyziológie, Slovenská akadémia vied, Bratislava

Úvod: Perivaskulárne tukové tkanivo (PVTT) vykazuje u zdravých jedincov inhibičný vplyv na cieвне kontrakcie. Cieľom tejto práce bolo študovať zmeny v modulačnom pôsobení PVTT na adrenergické kontrakcie mezenterickej artérie u potkanov po miernom zvýšení množstva ich telesného tuku, ktoré bolo vyvolané nadmerným príjmom fruktózy.

Metodika: Skupine normotenzných Wistar-Kyoto potkanov (WKY) a spontánne hypertenzných potkanov (SHR) bol namiesto pitnej vody podávaný 10 % roztok fruktózy po dobu 8 týždňov (12. – 20. týždeň života). Krvný tlak bol meraný pletyzmograficky na chvostovej artérii potkanov v bdelom stave. V 20. týždni života boli zvieratá usmrtené a boli z nich izolované artérie so zachovaným a odstráneným PVTT, z ktorých boli pripravené prstencové preparáty na testovanie reaktivity in vitro. Na mezenterickej artérii boli hodnotené izometrické kontrakcie v odpovedi na noradrenalín a na elektrickú stimuláciu perivaskulárnych sympatikových nervov. V hrudnej aorte bola sledovaná od endotelu závislá relaxácia indukovaná acetylcholínom.

Výsledky: Po 8-týždňovom podávaní 10 % fruktózy bolo u WKY ako aj u SHR zistené zvýšenie systolického tlaku krvi, plazmatickej koncentrácie triglyceridov, relatívnej hmotnosti pečene a zmenšenie od endotelu závislej relaxácie aorty. U SHR došlo navyše aj k zvýšeniu telesnej hmotnosti a relatívnej hmotnosti srdca. U WKY nebola vplyvom podávania fruktózy zmenená hmotnosť tela, avšak bolo zistené zvýšenie hmotnosti retroperitoneálneho tukového ložiska. Vysoký príjem fruktózy u WKY spôsobil výraznú redukciu adrenergických kontraktíí v mezenterickej artérii, čo bolo prevažne spôsobené potenciáciou antikotraktílného účinku PVTT. Tento efekt nebol pozorovaný u SHR, u ktorých je i v kontrolných podmienkach (bez podávania fruktózy) výrazne znížený inhibičný vplyv PVTT na arteriálne kontrakcie.

Záver: Vysoký príjem fruktózy u potkana môže mať lipogénne a prohypertenzné účinky. U WKY zároveň vyvoláva výraznú inhibíciu adrenergických kontraktíí, ktorá je z veľkej časti sprostredkovaná zvýšením antikotraktílného vplyvu PVTT.

Práca bola podporená grantom VEGA No. 2/0202/16.

VPLYV LETOVEJ ZÁŤAŽE NA ZMENU VYBRANÝCH BIOCHEMICKÝCH PARAMETROV U POŠTOVÝCH HOLUBOV

Zigo F., Vasiľ M., Zigová M., Ondrášovičová S.

Ústav chovu zvierat, UVLF, Košice, Slovenská republika

Úvod: Nadmerné zaťaženie poštových holubov počas pretekovej sezóny nielen oslabuje ich organizmus ale zvyšuje jeho náchylnosť k stresu a k rôznym ochoreniam. Pre rýchlu regeneráciu a opätovné zaradenie jedincov do pretekového plánu je zvlášť dôležitá biochemická diagnostika porúch zdravotného stavu, ktorá sa stáva nevyhnutnou súčasťou športovej medicíny. Štúdia sa zaoberá sledovaním zmien vybraných biochemických ukazovateľov u 14 poštových holubov (*Columba livia* f. dom.) počas 300 km letovej vzdialenosti.

Metodika: V chove 80 ks poštových holubov medzi 2-4 rokom bolo vybraných 7 ks holubov a 7 ks holubíc o priemernej hmotnosti 495g a 470g, ktoré sa zúčastnili stredne dlhého preteku v rozpätí 301 – 338 km. Doba trvania letu bola 2 h a 50 min. o priemernej rýchlosti 105 km/h. Pred nasadením na pretek ako aj po skončení preteku bola odoberaná krv do 3 ml heparinizovaných skúmaviek z vena tarso metatarsica. Zo získanej krvnej plazmy sa stanovovalo 12 biochemických ukazovateľov a to aktivita enzýmov kreatín kinázy (CK), alanínaminotransferázy (ALT), aspartátaminotransferázy (AST), alkalickéj fosfatázy (ALP), glutation peroxidázy (GPx), superoxid dysmutázy (SOD), laktát dehydrogenázy (LDH) ako aj obsah glukózy (Glu), kyseliny močovej (UA), kreatinínu (CRE), cholesterolu (Chol) a celkových bielkovín (TP). Priemerné namerané hodnoty (M) sledovaných biochemických ukazovateľov pred a po preteku boli štatisticky vyhodnocované pomocou Studentovho t-testu pri štatistickej významnosti ($P < 0,05$).

Výsledky: Po preteku bola zaznamenaná zvýšená ($P < 0,01$) enzymatická aktivita CK, ALT, AST, ktorá je dobrým indikátorom svalového zaťaženia počas preteku a spolu so zvýšenou ALP, LDH, sérovou koncentráciou intracelulárnych bielkovín spolu a CRE nám udáva mieru svalového poškodenia po preteku ako aj dobu regenerácie jedinca. Potvrdením znížených ($P < 0,05$) hodnôt Chol sa preukázalo, že so zvýšenou oxidáciou voľných mastných kyselín v sére korešponduje i pokles ($P < 0,01$) hladiny Glu.

Záver: Správne načasovanie formy ako aj poznatky metabolických a antioxidantných procesov, ktoré sa odohrávajú v organizme holubov pri extrémnych letových nárokoch nám napomáhajú predovšetkým v individuálnej selekcii vhodných jedincov, ktorých môžeme zaťažiť intenzívnym tréningom a očakávať adekvátny výsledok.

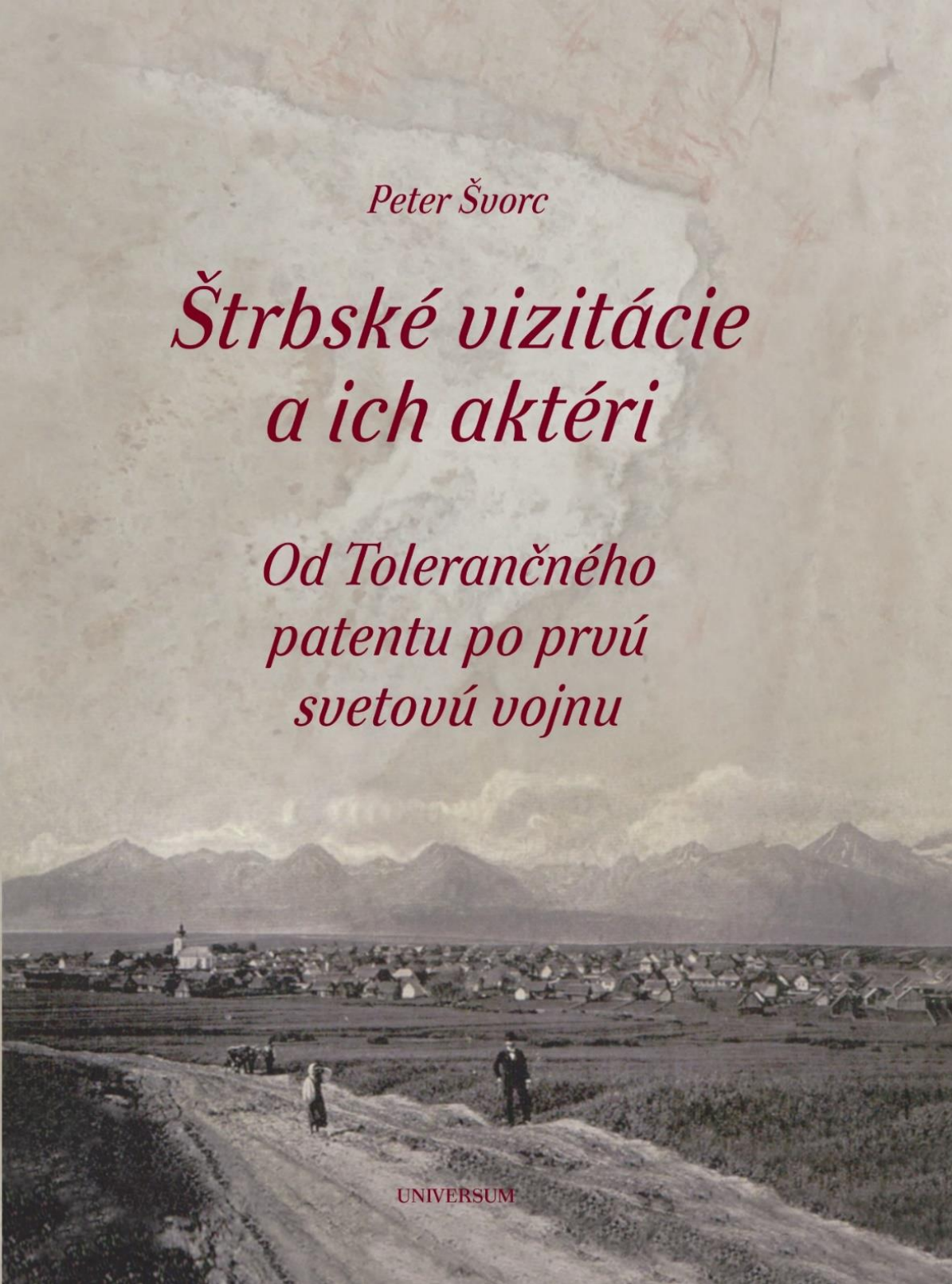
NAJNOVŠIE KNIHY vydavateľstva UNIVERSUM

Peter Švorc

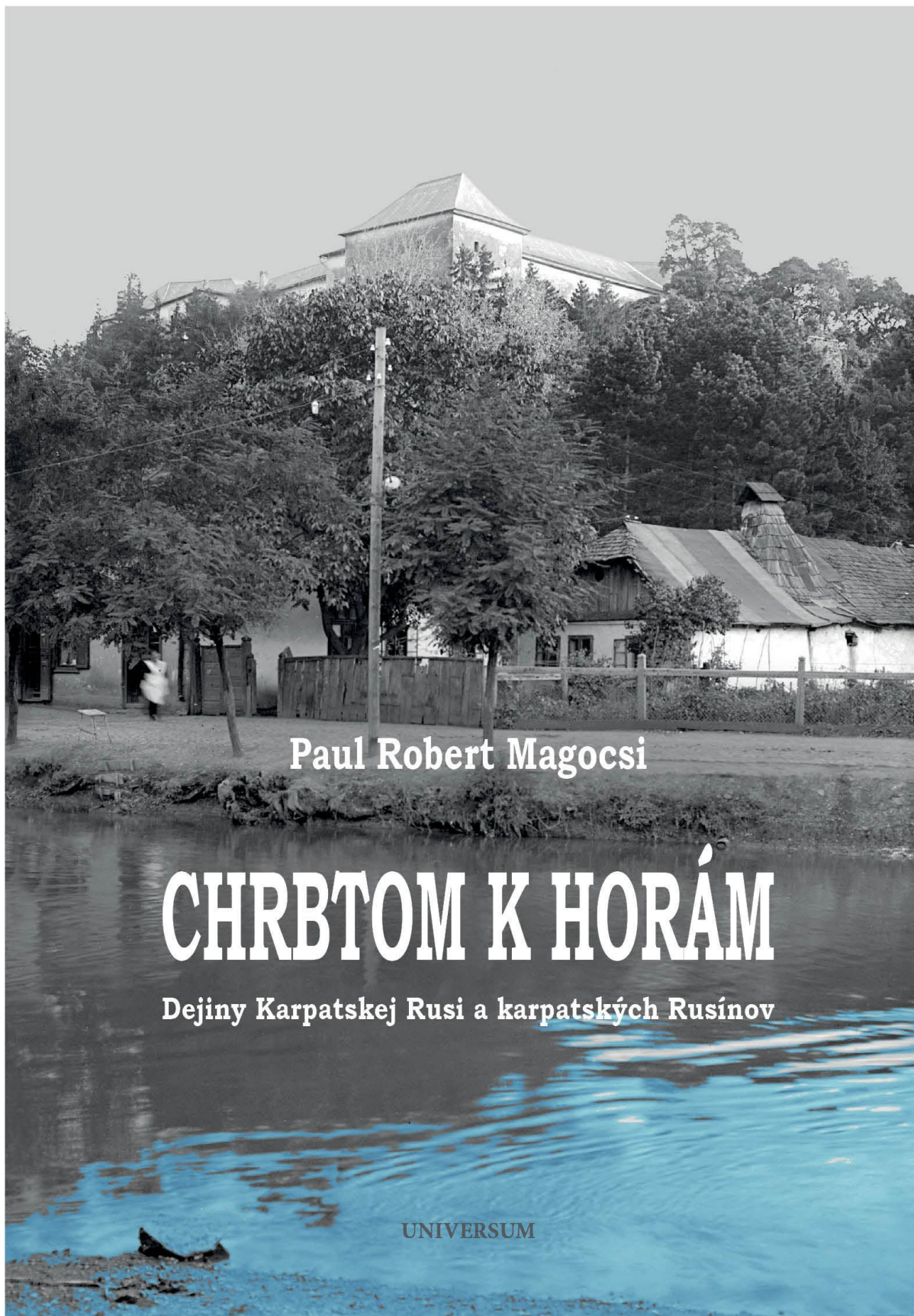
Štrbské vizitácie a ich aktéri

*Od Tolerančného
patentu po prvú
svetovú vojnu*

UNIVERSUM



NAJNOVŠIE KNIHY vydavateľstva UNIVERSUM



Paul Robert Magocsi

CHRBTOM K HORÁM

Dejiny Karpatskej Rusi a karpatských Rusínov

UNIVERSUM

Zborník abstraktov z 93. Fyziologických dní

Zostavil:
Doc. RNDr. Pavol Švorc, CSc.
Ing. Martin Kundrík

Textová a jazyková redakcia:
autori príspevkov

Pre Lekársku fakultu UPJŠ v Košiciach vydalo vydavateľstvo UNIVERSUM-EU, s. r. o.
UNIVERSUM-EU, s. r. o., Javorinská 26, 080 01 Prešov
www.universum-eu.sk
Prešov – Košice 2017

ISBN 978-80-89046-98-0