



Záverečná karta projektu

Názov projektu

Evidenčné číslo projektu

APVV-19-0540

**Úloha neischemických adaptačných stimulov v ochrane ischemického myokardu:
štúdium spúšťacích mechanizmov a bunkovej kardioprotektívnej signalizácie**

Zodpovedný riešiteľ **MUDr. Táňa Ravingerová, DrSc.**

Príjemca **Centrum experimentálnej medicíny SAV, v. v. i. - Ústav pre výskum
srdca**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Centrum Experimentálnej Medicíny SAV v.v.i. Ústav pre Výskum srdca

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

Aristotle University of Thessaloniki (Greece) Cardiac Physiology Group
Fyziologický Ústav AVČR Praha (Česká republika)

Udelené patenty/podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory, ktoré sú výsledkami projektu

0

Najvýznamnejšie publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu – uveďte aj publikácie prijaté do tlače

Uplatnenie výsledkov projektu

Projekt prináša nové originálne výsledky, ktoré spočívajú v neinvazívnom spôsobe aplikácie, a ktoré môžu byť v budúcnosti použité pre skvalitnenie liečby pacientov s kardiovaskulárnymi ochoreniami.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v slovenskom jazyku (max. 20 riadkov)

Pri riešení cieľov projektu boli použité rôzne experimentálne modely ex vivo (izolované perfundované srdce dospelých a starnúcich potkanov kmeňa Wistar) a in vivo (hereditárny model hypertenzie, SHR) a fyziologické, biochemické, imunochemické metódy, ktoré umožňujú analýzu procesov v normálnom a ischemickom myokarde a skúmanie mechanizmov bunkovej signalizácie podieľajúcich sa na patologických ako aj na ochranných mechanizmoch v myokarde. Skúmali sme neinvazívne adaptačné mechanizmy ako sú vzdialený-remote ischemický preconditioning (RIPC), intermitentný hypoxický preconditioning (IHPC), preconditioning indukovaný fyzickou aktivitou (beh) a rôzne formy farmakologického preconditioningu.

1. K najvýznamnejším výsledkom patrí zistenie že, napriek očakávaniu, starnutie neovplyvňovalo významne základné funkčné parametre srdca. Taktiež nebol pozorovaný pokles účinnosti RIPC z hľadiska ochrany voči letálnemu poškodeniu (infarkt myokardu) ani z hľadiska ochrany pred mechanickou dysfunkciou. Na druhej strane, výskyt malígnych tachyarytmií nebol potlačený v srdciach vystavených protokolu RIPC, ako sa to všeobecne môže očakávať.
2. V našich experimentoch sme podaním agonistu PPAR β/δ latky GW0742 dospelým potkanom in vivo indukovali kardioprotektívny efekt v ich srdciach vystavených globálnej ischémii a reperfúzii ex vivo. Aktivácia PPAR β/δ nielen znížila veľkosť infarktu, kontrakčnú dysfunkciu a výskyt komorových arytmií, ale upregulovala superoxiddysmutázu-2, katalázu a uncoupling protein 3 čo zmierňovalo oxidačný stres. Aktivácia PPAR β/δ taktiež zvyšovala mRNA expresiu a enzymatickú aktivitu aldehyddehydrogenázy2 (ALDH2), inhibícia ktorej zrušila antiinfarktový účinok PPAR β/δ aktivácie. Zaujímavým výsledkom bolo aj zistenie nárastu mitochondriálneho ATP, čo spolu s antioxidačným efektom poukazuje na zlepšenie mitochondriálnej funkcie a tvorby energie ako na hlavné mechanizmy kardioprotekcie indukovanej aktiváciou PPAR β/δ .
3. V izolovaných perfundovaných srdciach potkana vystavených 30 min ischémii a 10 min reperfúzii poškodená funkcia srdca nebola zmiernená prostredníctvom inhibície receptorinteracting proteínkinázy 3 (RIP3) o ktorej je známe že sa podieľa na viacerých signalizačných kaskádach vrátane nekroptózy, zápalu a oxidačného stresu. Inhibícia RIP3 zabránila ruptúre plazmatickej membrány a oddialila otvorenie MPTP, čo je kardioprotektívny účinok, a čo bolo spojené s moduláciou XO a MnSOD. Práca poukazuje že RIP3 reguluje reperfúzne poškodenie prostredníctvom vplyvov na oxidačný stres a mitochondriálnu aktivitu, nie však cez nekroptózu.
4. Zaujímavým výsledkom bolo aj zistenie že fyzická aktivita (voľný beh) taktiež zvyšuje antioxidačnú kapacitu v myokarde (nárast expresie Mn-SOD) a expresiu beta3-adrenergických receptorov v srdci čo môže viesť k aktivácii kinázy Akt, potlačeniu proapoptotických mechanizmov a súvisieť s ochranou myokardu voči ischémii.
5. K ďalším výsledkom patrí zistenie, že adaptácia na chronickú hypoxiu chránila srdce pred postischemickou kontraktílnou dysfunkciou, znižovala rozsah infarktu myokardu, uvoľňovanie kreatínkinázy a pokles mitochondriálnej respirácie. Zistili sme, že za protektívne účinky hypoxického preconditioningu je zodpovedná aktivácia RISK dráhy vo väčšej miere ako aktivácia SAFE dráhy.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v anglickom jazyku (max. 20 riadkov)

SHR rats) and in vivo experimental models and physiological, biochemical, and immunochemical methods were used to solve the project objectives, which allowed the analysis of processes in normal and ischemic myocardium and investigation of cellular signaling mechanisms involved in pathological as well as protective mechanisms in the myocardium. We investigated non-invasive adaptation mechanisms such as remote ischemic preconditioning (RIPC), intermittent hypoxic preconditioning (IHPC), preconditioning induced by physical activity (running), and various forms of pharmacological preconditioning.

1. Among the most significant results is the finding that, contrary to expectation, aging did not significantly affect the basic functional parameters of the heart. Also, no decrease in the effectiveness of RIPC was observed in terms of protection against lethal damage (myocardial infarction) or in terms of protection against mechanical dysfunction. On the other hand, the occurrence of malignant tachyarrhythmias was not suppressed in hearts exposed to the RIPC protocol, as generally expected.
2. In our experiments, by administering the PPAR β/δ agonist GW0742 to adult rats in vivo, we induced a cardioprotective effect in their hearts exposed to global ischemia and ex vivo reperfusion. Activation of PPAR β/δ not only reduced infarct size, contractile dysfunction, and incidence of ventricular arrhythmias, but also upregulated superoxide dismutase-2, catalase, and uncoupling protein 3, which alleviated oxidative stress. PPAR β/δ activation also increased the mRNA expression and enzymatic activity of aldehyde dehydrogenase 2 (ALDH2), inhibition of which abolished the anti-infarct effect of PPAR β/δ activation. An interesting result was also the detection of an increase in mitochondrial ATP, which, together with the antioxidant effect, points to the improvement of mitochondrial function and

energy production as the main mechanisms of cardioprotection induced by PPAR β/δ activation.

3. In isolated perfused rat hearts exposed to 30 min of ischemia and 10 min of reperfusion, impaired cardiac function was not alleviated by inhibition of receptor-interacting protein kinase 3 (RIP3), which is known to be involved in multiple signaling cascades including necroptosis, inflammation, and oxidative stress. Inhibition of RIP3 prevented plasma membrane rupture and delayed MPTP opening, a cardioprotective effect that was associated with the modulation of XO and MnSOD. The work shows that RIP3 regulates reperfusion injury through effects on oxidative stress and mitochondrial activity, but not through necroptosis.

4. An interesting result was also the finding that physical activity (free running) also increases the antioxidant capacity in the myocardium (increase in the expression of MnSOD) and the expression of beta3-adrenergic receptors in the heart, which can lead to activation of the Akt kinase, suppression of proapoptotic mechanisms and is related to protection myocardium against ischemia.

5. Other results include the finding that adaptation to chronic hypoxia protected the heart from post-ischemic contractile dysfunction, reduced the extent of myocardial infarction, creatine kinase release, and decreased mitochondrial respiration. We found that the activation of the RISK pathway is responsible for the protective effects of hypoxic preconditioning to a greater extent than the activation of the SAFE pathway.