

POLISH ACADEMY OF SCIENCES KRAKOW BRANCH  
COMMISSION OF MEDICAL SCIENCE  
JAGIELLONIAN UNIVERSITY MEDICAL COLLEGE

---

# FOLIA MEDICA CRACOVIENSIA

Vol. LIX Supplement 1  
2019

KRAKÓW

**FOLIA MEDICA CRACOVIENSIA** (*Folia Med Cracov*)  
The Official Journal of the Commission of Medical Science  
of the Polish Academy of Sciences Krakow Branch  
and the Jagiellonian University Medical College

**ESTABLISHED 1959**  
**Indexed in PubMed**

PUBLISHER

Polish Academy of Sciences & the Jagiellonian University Medical College

EDITOR-IN-CHIEF

Dr hab. Krzysztof Gil, prof. UJ

VICE EDITOR-IN-CHIEF

Prof. Andrzej Surdacki

SECRETARY EDITOR

Prof. Beata Kuśnierz-Cabala

EDITORIAL BOARD MEMBERS

Prof. Benjamin Chain (London, UK), Prof. Paul Enck (Tübingen, Germany),  
Prof. Tomasz Grodzicki (Kraków, Poland), Prof. Kalina Kawecka-Jaszcz (Kraków, Poland),  
Prof. Maciej Małecki (Kraków, Poland), Prof. Janusz Marcinkiewicz (Kraków, Poland),  
Prof. Franz H. Messerli (New York, USA), Prof. Jacek Musiał (Kraków, Poland),  
Prof. Wiesław Pawlik (Kraków, Poland), Prof. Jacek J. Pietrzyk (Kraków, Poland),  
Prof. Władysław Sułowicz (Kraków, Poland), Prof. Piotr J. Thor (Kraków, Poland),  
Prof. Jerzy A. Walocha (Kraków, Poland)

ADDRESS

ul. Czysza 18, 31-121 Kraków, Poland  
e-mail: folmedcrac@pan.pl; <http://fmc.czasopisma.pan.pl>

© Copyright by Authors, Polish Academy of Sciences  
and the Jagiellonian University Medical College

This publication has been financed  
by Marian Smoluchowski Institute of Physics Jagiellonian University

Set and printed by FALL, ul. Garczyńskiego 2, 31-524 Kraków

POLISH ACADEMY OF SCIENCES KRAKOW BRANCH  
COMMISSION OF MEDICAL SCIENCE  
JAGIELLONIAN UNIVERSITY MEDICAL COLLEGE

---

Vol. LIX Supplement 1

2019

# FOLIA MEDICA CRACOVIENSIA



**XXIV Sympozjum  
Sekcji Kardiologii Eksperymentalnej  
Polskiego Towarzystwa Kardiologicznego  
przy udziale  
Komitetu Nauk Fizjologicznych i Farmakologicznych  
Polskiej Akademii Nauk**

**TOMASZOWICE k. Krakowa, 28–30.11.2019**

**ABSTRACTS / STRESZCZENIA**

## XXIV SYMPOZJUM SEKCJI KARDIOLOGII EKSPERYMENTALNEJ

### MIEJSCE OBRAD

#### HOTEL DWÓR W TOMASZOWICACH

Krakowskie Centrum Konferencyjne, ul. Krakowska 68, 32-085 Tomaszowice  
imprezy@dwor.pl; www.dwor.pl  
Tel.: +48 12 419 20 00

### KOMITET NAUKOWY

#### XXIV Sympozjum Sekcji Kardiologii Eksperymentalnej

Prof. dr hab. Maciej Kurpisz, Instytut Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk — przewodniczący  
Prof. dr hab. Ewa Chabińska, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku  
Prof. dr hab. Stefan Chłopicki, Jagiellonian Centre for Experimental Therapeutics,  
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum w Krakowie  
Prof. dr hab. Agnieszka Cudnoch-Jędrzejewska, Warszawski Uniwersytet Medyczny  
Prof. dr hab. Józef Dulak, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie  
Prof. dr hab. Ewa Koźniewska-Kołodziejska, Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej  
Polskiej Akademii Nauk w Warszawie  
Prof. dr hab. Ewa Słomińska, Gdański Uniwersytet Medyczny  
Prof. dr hab. Ryszard T. Smoleński, Gdański Uniwersytet Medyczny  
Prof. dr hab. Krzysztof Żmudka, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum w Krakowie

### KOMITET ORGANIZACYJNY

#### XXIV Sympozjum Sekcji Kardiologii Eksperymentalnej

Dr hab. prof. UJ Ewa Stępień, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie — przewodnicząca  
Dr Anna Gromotowicz-Popławska, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku — z-ca przewodniczącej  
Dr hab. Natalia Rozwadowska, Instytut Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu

### SPONSORZY

#### XXIV Sympozjum Sekcji Kardiologii Eksperymentalnej

Komitet Nauk Fizjologicznych i Farmakologicznych Polskiej Akademii Nauk,  
Alab Sp. z o.o., Animalab Sp. z o.o., Bionicum Sp. z o.o., Biomedica Poland Sp. z o.o.,  
diCella sp. z o.o., Omixys



## PROGRAM SYMPOZJUM

### CZWARTEK, 28.11.2019

- 16.00–18.30 Rejestracja uczestników
- 18.30–19.15 Wykład PLENARNY  
*Nieprawidłowa budowa i czynność fibryny — nowy czynnik ryzyka powikłań zakrzepowo-zatorowych* — **prof. dr hab. Anetta Undas**  
Zakład Kardiochirurgii, Anestezjologii i Kardiologii Doświadczalnej, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, Kraków; Krakowskie Centrum Badań i Technologii Medycznych, Krakowski Szpital Specjalistyczny im. Jana Pawła II, Kraków
- 19.30 Kolacja

### PIĄTEK, 29.11.2019

- 9.00–9.15 OTWARCIE SYMPOZJUM  
Dziekan Wydziału Lekarskiego Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego —  
**prof. dr hab. Maciej Małecki**  
Przewodnicząca Sekcji Kardiologii Eksperymentalnej PTK —  
**dr hab. prof. UJ Ewa Stępień**
- 9.15–10.45 SESJA I — *Nowe kierunki i perspektywy kardiologii eksperymentalnej*  
Przewodniczący: **dr hab. prof. UJ Ewa Stępień** i **prof. dr hab. Maciej Kurpisz**
- 9.15–9.45 *Terapie komórkowe w niewydolności serca* — **prof. dr hab. Józef Dulak**  
Zakład Biotechnologii Medycznej, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński, Kraków; Kardio-Med Silesia, Zabrze
- 9.45–10.15 *Nowa technologia J-PET — perspektywy obrazowania dynamiki metabolizmu i patologii tkanek* — **prof. dr hab. Paweł Moskal**  
Zakład Fizyki Doświadczalnej Cząstek i Ich Zastosowań, Instytut Fizyki im. M. Smoluchowskiego, Wydział Fizyki, Astronomii i Informatyki Stosowanej, Uniwersytet Jagielloński, Kraków
- 10.15–10.45 *Od pomysłu do wdrożenia. Rola badań eksperymentalnych i przedklinicznych w kardiologii oparta na przykładach* — **dr hab. Piotr Buszman**  
Centrum Badawczo Rozwojowe, American Heart of Poland, Katowice; Wydział Lekarski i Nauk o Zdrowiu, Krakowska Akademia im. Andrzeja Frycza Modrzewskiego, Kraków
- 10.45–11.15 Przerwa na kawę
- 11.15–12.45 SESJA II — *Prezentacje ustne badań własnych*  
Przewodniczący: **prof. dr hab. Barbara Malinowska** i **prof. dr hab. Józef Dulak**
- 11.15–11.30 *Analiza sprzężenia czynnościowego pomiędzy podatnością dużych tętnic i rytmem serca* — Tomasz Wierzba, Stanisław Zajączkowski, Artur Poliński
- 11.30–11.45 *Higher baseline heart rate and systolic blood pressure are associated with discrepancy between resting and hyperaemic indices of myocardial ischaemia* — Łukasz Niewiara, Bartłomiej Guzik, Krzysztof Żmudka, Piotr Szolc, Elżbieta Ostrowska-Kaim, Wojciech Zajdel, Jacek Legutko
- 11.45–12.00 *Kannabidiol modyfikuje parametry stresu oksydacyjnego w sercu i osoczu szczurów z nadciśnieniem pierwotnym i wtórnym* — Patryk Remiszewski, Marek Toczek, Michał Biernecki, Magdalena Timoszuk, Anna Jastrząb, Barbara Malinowska

- 12.00–12.15 *Induced pluripotent stem cells-derived cardiomyocytes in contrast to adipose-derived stromal cells improve heart function in murine model of myocardial infarction* — Jacek Stępniewski, Mateusz Tomczyk, Kalina Andrysiak, Izabela Kraszewska, Alicja Martyniak, Alicja Józkowicz, Agnieszka Jaźwa-Kusior, Józef Dulak
- 12.15–12.30 *Samoorganizująca się krytykalność w dynamice skrzepu u myszy in vivo* — Kamil Stefanczyk, Teodor Buchner, Anna Gromotowicz-Popławska, Ewa Chabielska, Natalia Marcińczyk, Michał Aleksiejczuk
- 12.30–12.45 *System T-TAS narzędziem do całościowej analizy tworzenia skrzepu w warunkach przepływu krwi* — Janusz Pińkowski (Bionicum)
- 13.00–14.00 Obiad
- 14.00–15.00 Spacer po okolicy
- 15.00–16.30 SESJA III — *Prezentacje ustne badań własnych*  
Przewodniczący:  
**prof. dr hab. Ewa Koźniewska-Kołodziejska i prof. dr hab. Stefan Chłopicki**
- 15.00–15.15 *Rola striatyn w mechanizmie prozakrzepowego działania aldosteronu* — Anna Gromotowicz-Popławska, Natalia Marcińczyk, Michał Aleksiejczuk, Glenn Merrill-Skoloff, Robert Flaumenhaft, Jose Romero, Gordon Williams, Ewa Chabielska
- 15.15–15.30 *Charakterystyka i właściwości fibrynolityczne mikropęcherzyków pochodzących ze śródbłónka otrzymywanych w warunkach hiperglikemii* — Martyna Durak-Kozica, Andrzej Wróbel, Mark Platt, Rush Maugi, Magdalena Surman, Małgorzata Przybyło, Zbigniew Baster, Zenon Rajfur, Ewa Stępień
- 15.30–15.45 *Endothelial dysfunction in CD73-deficient mice is linked with impaired L-arginine metabolism* — Paulina Mierzejewska, Magdalena Zabielska, Barbara Kutryb-Zajac, Marta Tomczyk, Patrycja Koszałka, Ryszard Smoleński, Ewa Słomińska
- 15.45–16.00 *Różnice w regulacji tętnic powierzchniowych i wewnątrzmoźgowych mózgu szczura w warunkach AVP-zależnej hiponatremii* — Marta Aleksandrowicz, Ewa Koźniewska-Kołodziejska
- 16.00–16.15 *Modeling of endothelial (dys)function in maturity onset diabetes of the young using induced pluripotent stem cells* — Neli Kachamakova-Trojanowska, Jacek Stępniewski, Józef Dulak
- 16.15–16.30 *Life time automated measurements of the dynamic changes and interactions of cells on Incucyte multiplatform* — Katarzyna Nazarewicz-Smak (Omixys)
- 16.30–17.00 Przerwa na kawę
- 17.00–18.00 SESJA IV — *Sesja plakatowa*  
Przewodniczący:  
**dr hab. prof. CMKP Urszula Mackiewicz i prof. dr hab. Krzysztof Żmudka**
- 1 *Rola aldosteronu w mechanizmie zmian przepuszczalności naczyń krwionośnych skóry szczura z cukrzycą* — Michał Aleksiejczuk, Joanna Stelmaszewska, Anna Gromotowicz-Popławska, Natalia Marcińczyk, Ewa Chabielska
  - 2 *Human induced pluripotent stem cells-derived cardiomyocytes for studies on the mechanism of cardiomyopathy in Duchenne muscular dystrophy* — Kalina Andrysiak, Jacek Stępniewski, Łukasz Chrobok, Katarzyna Palus-Chramiec, Paweł Ferdek, Marian Lewandowski, Józef Dulak

- 3 *Ekspresja przedsiolkowych łańcuchów lekkich miozyny (ALC1) w komorze serca osoby dorosłej po niedokrwieniu i reperfuzji* — Marta Banaszkiewicz, Agnieszka Olejnik, Anna Krzywonos-Zawadzka, Iwona Bil-Lula
  - 4 *Ochrona serca przed uszkodzeniem niedokrwienno-reperfuzyjnym przy zastosowaniu 5-fenoksyfenilo-5-alkiloaminoazotanu kwasu barbiturowego (FAAKB)* — Iwona Bil-Lula, Aleksandra Franczak, Marta Banaszkiewicz, Anna Krzywonos-Zawadzka
  - 5 *Multifactorial phenotype of endothelial dysfunction prior to the development of atherosclerotic plaques in ApoE/LDLR-/- mice* — Anna Bar, Marta Targosz-Korecka, Joanna Suraj-Prażmowska, Bartosz Proniewski, Agnieszka Jaształ, Brygida Marczyk, Magdalena Sternak, Magdalena Przybyło, Anna Kurpińska, Maria Walczak, Renata Kostogryś, Marek Szymoński, Stefan Chłopicki
  - 6 *Obrazowanie bioluminescencji dla monitorowania szlaków migracyjnych implantowanych komórek macierzystych* — Karolina Bednarowicz, Katarzyna Fiedorowicz, Anna Rugowska, Agnieszka Zimna, Tomasz Jan Kolanowski, Natalia Rozwadowska, Maciej Kurpisz
  - 7 *Potencjalny wpływ niskiego stężenia adiponektyny na upośledzanie funkcji lewej komory serca u szczurów z niedoczynnością tarczycy* — Agnieszka Bińczak, Monika Duda
  - 8 *Implantation feasibility and early vascular response of a novel PLLA/PLGA bioresorbable scaffold in porcine coronary in-stent restenosis model* — Mateusz Kachel, Magdalena Michalak, Marta Konopko, Michał Sobota, Jerzy Małachowski, Paweł Buszman, Krzysztof Milewski, Piotr Buszman
  - 9 *Rats in hypothermia experience dramatically decreased area of necrosis assessed in tetrazolium staining during ischemia-reperfusion injury* — Tomasz Ciesielski, Małgorzata Wojciechowska, Katarzyna Czarzasta, Magdalena Niedziela, Anita Trojanowska, Sonia Borodzicz, Agnieszka Cudnoch-Jędrzejewska
  - 10 *Optimization and characterization of low vacuum filtration procedure — novel method for the isolation of endothelial extracellular vesicles* — Anna Drożdż, Agnieszka Kamińska, Magdalena Surman, Agnieszka Gonet-Surówka, Andrzej Wróbel, Ewa Stępień
  - 11 *Towards high content imaging of the primary murine coronary endothelial cells to understand pathogenesis of heart failure* — Marek Grosicki, Stefan Chłopicki
  - 12 *Role of heme oxygenase-1 and lipid metabolism in maturation and binucleation of cardiomyocytes derived from human induced pluripotent stem cells* — Mateusz Jeż, Alicja Martyniak, Kalina Andrysiak, Alan Kania, Łukasz Chrobok, Katarzyna Palus-Chramiec, Marian Lewandowski, Alicja Józkowicz, Jacek Stępniewski, Józef Dulak
  - 13 *Modulujący wpływ witaminy D na kardiotoksyczne działanie 5-fluorouracylu* — Michał Jurczyk, Paulina Stach, Kamil Skowron, Krzysztof Gil
  - 14 *Zmiany w układzie autonomicznym wywołane bodźcami akustycznymi — wpływ uprzednich doświadczeń* — Michał Jurczyk, Andrzej Boryczko, Agata Furgała, Krzysztof Gil
  - 15 *Wybrane właściwości płytkowych pęcherzyków zewnątrzkomórkowych jako biomarker ryzyka sercowo-naczyniowego* — Agnieszka Kamińska, Barbara Jachimska, Ewa Stępień
- 18.00–19.00 Nadzwyczajne Walne Zgromadzenie SKE PTK
- 19.00 Kolacja

**SOBOTA, 30.11.2019**

9.00–10.30

**SESJA V — Prezentacje ustne badań własnych**Przewodniczący: **prof. dr hab. Ewa Słomińska i prof. dr hab. Tomasz Wierzb**

9.00–9.15

*Evaluation of cardiac function in genetic model of atherosclerosis* — Alicja Bulińska, Paulina Mierzejewska, Marta Tomczyk, Iwona Pelikant-Małecka, Barbara Kutryb-Zajac, Patrycja Jabłońska, Ewa Słomińska, Ryszard Smoleński

9.15–9.30

*Nowa strategia leczenia chorób układu sercowo-naczyniowego poprzez zwiększoną podaż tlenu do mięśnia sercowego przy użyciu tris pirofosforanu mioinozytolu (ITPP). Badanie pilotażowe w modelu pozawałowej niewydolności serca u szczura* — Marta Oknińska, Aleksandra Paterek, Klaudia Brodaczevska, Claudine Kieda, Michał Mączewski, Urszula Mackiewicz

9.30–9.45

*Wpływ integryny  $\alpha 2\beta 1$  na regulację uwalniania interleukiny-6 przez fibroblasty serca hodowane na żelach o różnej twardości* — Małgorzata Gałdyszyńska, Jacek Drobnik

9.45–10.00

*Dysregulation of angiogenesis in Duchenne muscular dystrophy — studies in mdx mice and human induced pluripotent stem cells differentiated to endothelial cells* — Olga Mucha, Paulina Podkaliccka, Katarzyna Kaziród, Kinga Rusin, Neli Kachamakova-Trojanowska, Kalina Andrysiak, Jacek Stępniewski, Józef Dulak, Agnieszka Łoboda

10.00–10.15

*Excessive infiltration of monocyte-derived macrophages into the cardiac muscle contributes to heart failure progression after myocardial infarction* — Mateusz Tomczyk, Izabela Kraśewska, Neli Kachamakova-Trojanowska, Józef Dulak, Agnieszka Jaźwa-Kusior

10.15–10.30

*Sztuczna inteligencja w analizie obrazów — diCELLa case study* — Krzysztof Misztal (diCELLa)

10.30–11.00

Przerwa na kawę

11.00–12.00

**SESJA VI — Sesja plakatowa**

Przewodniczący:

**prof. dr hab. Agnieszka Cudnoch-Jędrzejewska i prof. dr hab. Andrzej Beręsewicz**

- 1 *Identyfikacja glikowanych i acetylowanych reszt lizynowych w ludzkiej  $\alpha 2$ -antyplazminie* — Agata Bryk, Dominik Cysewski, Michał Dadlez, Anetta Undas
- 2 *The inhibition of thrombin activity improves the function of vascular endothelium in angiotensin II-induced hypertension in mice* — Agnieszka Kij, Anna Bar, Bartosz Proniewski, Łukasz Mateuszuk, Brygida Marczyk, Anna Tworzydło, Camilla Enggaard, Pernille Laerkegaard Hansen, Boye Jensen, Maria Walczak, Stefan Chłopicki
- 3 *Wpływ glukozy na metabolizm energetyczny ludzkich komórek interstycjalnych zastawki aortalnej (VICs)* — Magdalena Kopytek, Alicja Bulińska, Anetta Undas, Ryszard Smoleński, Joanna Natowska
- 4 *Wpływ diety wysokocholesterolowej na ekspresję biomarkerów przebudowy mięśnia sercowego w mysim modelu ApoE* — Michał Kowara, Michał Jędrzejewski, Katarzyna Czarzasta, Agnieszka Segiet, Łukasz Koperski, Agnieszka Cudnoch-Jędrzejewska
- 5 *Wpływ ekstraktu z kłącza *Potentilla erecta* na układ hemostazy u myszy z cukrzycą typu I* — Natalia Marcińczyk, Anna Gromotowicz-Popławska, Michał Aleksiejczuk, Michał Tomczyk, Ewa Chabielska



- 6 *The role of miR-378a in maturation of human induced pluripotent stem cells-derived cardiomyocytes* — Alicja Martyniak, Solène Coste, Benjamin Motais, Jacek Stępniewski, Józef Dulak
- 7 *Metformina poprawia metabolizm, funkcje i zapobiega zmianom strukturalnym w sercach szczurów SHR* — Krzysztof Mińczuk, Jie Li, James Massey, Jack Roy, Paul Spumen, James Patrie, Robert Carey, Heinrich Taegtmeier, Susanna Keller, Bijoy Kundu, Barbara Malinowska
- 8 *Development of peripheral endothelial function in murine model of Heart Failure (Tgαq\*44)* — Tasnim Mohaissen, Bartosz Proniewski, Agnieszka Kij, Anna Bar, Magdalena Sternak, Brygida Marczyk, Raquel Rodrigues Díez, Ana Briones, Stefan Chłopicki
- 9 *Tetrazolium staining in myocardial infarction size measurement — methodology* — Magdalena Niedziela, Małgorzata Wojciechowska, Katarzyna Czarzasta, Anita Trojanowska, Sonia Borodzicz, Tomasz Ciesielski, Agnieszka Cudnoch-Jędrzejewska
- 10 *Zmiany w statusie żelaza w wątrobie i sercu w modelu przewlekłej niewydolności serca indukowanej tachykardią u świń* — Monika Kasztura, Urszula Paślawska, Alicja Tomaszek, Aleksandra Tabiś, Jacek Bania, Maciej Zacharski, Robert Paślawski, Adrian Janiszewski, Piotr Kuroпка, Agnieszka Noszczyk-Nowak, Piotr Dzięgiel, Liliana Kiczak, Piotr Ponikowski
- 11 *Prevention of ventricular arrhythmias in severe heart failure obtained with Ivabradine* — Aleksandra Paterek, Marta Oknińska, Barbara Sochanowicz, Marcin Kruszewski, Urszula Mackiewicz, Przemysław Leszek, Michał Mączewski
- 12 *Wpływ L-argininy i nikotynamidu na prawą komorę serca u samców i samic szczura w doświadczalnym tętnicznym nadciśnieniu płucnym* — Katarzyna Sztormowska-Achranowicz, Ivan Kocić
- 13 *ECG changes during myocardial ischemia-reperfusion injury in rats* — Anita Trojanowska, Małgorzata Wojciechowska, Katarzyna Czarzasta, Magdalena Niedziela, Sonia Borodzicz, Tomasz Ciesielski, Agnieszka Cudnoch-Jędrzejewska
- 14 *Transkryptomowa analiza ekspresji genów w miokardium myszy i korelacja z obrazowaniem funkcyjnym* — Agnieszka Zimna, Tomasz Kolanowski, Karolina Bednarowicz, Katarzyna Fiedorowicz, Michał Fiedorowicz, Anna Rugowska, Natalia Rozwadowska, Maciej Kurpisz

12.00–13.00

SESJA VII

Przewodniczący:

**dr hab. prof. UJ Ewa Stępień i prof. dr hab. Maciej Kurpisz**

12.00–12.30

*TymOddycham.uj.edu.pl — wykorzystanie uniwersyteckiej sieci detektorów smogu dla społeczeństwa i nauki* — **dr hab. inż. Zenon Nieckarz**

Zakład Doświadczalnej Fizyki Komputerowej, Instytut Fizyki im. Mariana Smoluchowskiego, Wydział Fizyki, Astronomii i Informatyki Stosowanej, Uniwersytet Jagielloński, Kraków

12.30–13.00

Zakończenie Sympozjum i wręczenie nagród za najlepsze prezentacje ustne i plakatowe

13.00–14.00

Obiad



## RÓŻNICE W REGULACJI TĘTNIC POWIERZCHNIOWYCH I WEWNĄTRZMÓZGOWYCH MÓZGU SZCZURA W WARUNKACH AVP-ZALEŻNEJ HIPONATREMII

DIFFERENCES IN THE REGULATION OF PIAL ARTERIES AND INTRACEREBRAL  
ARTERIOLES OF THE RAT IN AVP-ASSOCIATED HYPONATREMIA

MARTA ALEKSANDROWICZ, EWA KOŹNIEWSKA-KOŁODZIEJSKA

*Pracownia Neurochirurgii Doświadczalnej i Klinicznej, Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej  
im. M. Mossakowskiego, Polska Akademia Nauk, Pawińskiego 5, 02-106 Warszawa*

**Wstęp:** Zarówno duże tętnice na powierzchni mózgu, jak i ich wewnątrzmożgowe odgałęzienia — tętniczki parenchymalne biorą udział w kontroli przepływu krwi przez mózg. Ze względu na ścisłą interakcję tętniczek parenchymalnych z astrocytami i nerwami okołonaczyniowymi, ich rola w regulacji przepływu krwi przez mózg jest szczególnie ważna. Wpływ hiponatremii, a zwłaszcza hiponatremii skojarzonej z wazopresyną (AVP), na układ naczyniowy mózgu, którego prawidłowa regulacja jest zasadniczym elementem homeostazy ośrodkowego układu nerwowego, jest nadal słabo poznany.

**Cel:** Określenie wpływu krótkotrwałej hiponatremii skojarzonej z AVP na wybrane aspekty regulacji napięcia ściany izolowanych tętnic powierzchniowych mózgu szczura (tętnica środkowa mózgu — MCA) oraz jej wewnątrzmożgowych odgałęzień — tętniczek parenchymalnych — PA.

**Metoda:** Badania zostały wykonane na izolowanych, uciśnieniowych i perfundowanych MCA i PA. Hiponatremię wywoływano *in vitro* poprzez obniżenie stężenia jonów sodu do 121 mM w płynie wewnątrz- i zewnątrzmożgowym zawierającym AVP. Badano wpływ hiponatremii skojarzonej z AVP na odpowiedź PA i MCA na kwasicę oraz na elementy regulacji zależnej od tlenu azotu (NO).

**Wyniki:** PA w porównaniu do MCA w warunkach kontrolnych nabierają większego napięcia, rozszerzają się w większym stopniu w odpowiedzi na kwasicę i małe dawki wazopresyny, oraz są bardziej wrażliwe na śródbłonko-zależny adenozyntotrójfosforan (ATP). Obecność AVP w środowisku hiponatremicznym powoduje skurcz zarówno PA, jak i MCA. Hiponatremia skojarzona z AVP nosi rozszerzenie PA na ATP i podanie donora NO oraz znacząco redukuje odpowiedź tych tętniczek na kwasicę. W przypadku MCA odpowiedzi te są wzmocnione w stosunku do kontroli.

**Wnioski:** Upośledzona regulacja PA w hiponatremii skojarzonej z AVP może prowadzić do zakłóceń funkcji mózgu i wywierać niekorzystny wpływ na pacjentów, u których hiponatremia z rozcińczenia jest zaburzeniem współistniejącym.

## ROLA ALDOSTERONU W MECHANIZMIE ZMIAN PRZEPUSZCZALNOŚCI NACZYŃ KRWIONOŚNYCH SKÓRY SZCZURA Z CUKRZYCĄ

THE ROLE OF ALDOSTERONE IN THE REGULATION  
OF MICROVASCULAR PERMEABILITY IN DIABETIC RATS SKIN

MICHAŁ ALEKSIEJCZUK<sup>1</sup>, JOANNA STELMASZEWSKA<sup>2</sup>,  
ANNA GROMOTOWICZ-POPŁAWSKA<sup>1</sup>,  
NATALIA MARCIŃCZYK<sup>1</sup>, EWA CHABIELSKA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zakład Biofarmacji, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, Mickiewicza 2C, 15-222 Białystok

<sup>2</sup> Zakład Analizy i Bioanalizy Leków, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku,  
Mickiewicza 2D, 15-222 Białystok

**Wstęp:** Cukrzyca towarzyszy lokalny stan zapalny skóry, który prowadzi do dysfunkcji śródbłonkowej bariery naczyniowej i zwiększonej przepuszczalności naczyń krwionośnych (PNK). Efektem może być rozwój dermatopatii cukrzycowych. Udowodniliśmy, że antagonistą receptora mineralokortykosteroidowego (MR) — eplerenon (EPL) normalizuje PNK skóry, zwiększoną miejscowym podaniem aldosteronu u szczurów normoglikemicznych (NORM). Podobny efekt zaobserwowano u zwierząt z cukrzycą, u których EPL obniżył PNK skóry, nie wykazując działania w grupie NORM, co wskazuje na udział aldosteronu w zwiększonej PNK w skórze cukrzycowej. Jednak jego molekularny mechanizm jest wciąż nieokreślony.

**Cel:** Celem pracy była ocena ekspresji genów kodujących MR, dehydrogenazę 11- $\beta$ -hydrokosteroidową (HSD-11 $\beta$ 2) zapewniającą selektywność MR względem aldosteronu, czynnik von Willebranda (vWF), śródbłonkowy czynnik wzrostu naczyń (VEGF) oraz białko błon obwodowych (ZO-1) w skórze szczurów z cukrzycą.

**Metodyka:** 45-dniową cukrzycę indukowano streptozotocyną (STZ; 65 mg/kg). Od 35. dnia zwierzętom STZ i NORM podawano p.o. EPL (100 mg/kg/d) przez 10 dni. W 45. dniu pobrano pełnoprzekrojowe fragmenty skóry, w których oceniono względną ekspresję genów kodujących MR, HSD-11 $\beta$ 2, VEGF, vWF, ZO-1 metodą rt-qPCR.

**Wyniki:** W grupie STZ zaobserwowano obniżenie ekspresji genów kodujących MR (\*\*\*) oraz HSD-11 $\beta$ 2 (\*\*\*) i jednocześnie nie stwierdzono zmian ekspresji genów kodujących VEGF, vWF oraz ZO-1. EPL nie zmienił ekspresji badanych genów w grupach STZ i NORM.

**Podsumowanie:** Obniżona ekspresja genów kodujących MR oraz HSD-11 $\beta$ 2 w skórze szczura z cukrzycą może wskazywać na zaangażowanie aldosteronu w rozwoju dermatopatii związanych z chorobą. Zmiana PNK skóry szczura z cukrzycą nie zachodzi w mechanizmie zależnym od zmian ekspresji genów kodujących vWF, VEGF oraz ZO-1. Obserwowany wcześniej spadek PNK, po podaniu EPL szczurom STZ, wydaje się nie być związany z mechanizmem angażującym badane geny.

KARDIOMIOCYTY UZYSKANE Z LUDZKICH INDUKOWANYCH  
 PLURIPOTENCJALNYCH KOMÓREK MACIERZYSTYCH JAKO  
 MODEL DO BADANIA MECHANIZMÓW KARDIOMIOPATII  
 W DYSTROFII MIĘŚNIOWEJ DUCHENNE’A

HUMAN INDUCED PLURIPOTENT STEM CELLS-DERIVED CARDIOMYOCYTES FOR STUDIES  
 ON THE MECHANISM OF CARDIOMYOPATHY IN DUCHENNE MUSCULAR DYSTROPHY

KALINA ANDRYSIAK<sup>1</sup>, JACEK STĘPNIEWSKI<sup>1</sup>, ŁUKASZ CHROBOK<sup>2</sup>,  
 KATARZYNA PALUS-CHRAMIEC<sup>2</sup>, PAWEŁ FERDEK<sup>3</sup>,  
 MARIAN LEWANDOWSKI<sup>2</sup>, JÓZEF DULAK<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> *Department of Medical Biotechnology, Faculty of Biochemistry, Biophysics and Biotechnology,  
 Jagiellonian University, Gronostajowa 7, 30-387 Kraków*

<sup>2</sup> *Department of Neurophysiology and Chronobiology, Institute of Zoology and Biomedical Research,  
 Jagiellonian University, Gronostajowa 9, 30-387 Kraków*

<sup>3</sup> *Department of Cell Biology, Faculty of Biochemistry, Biophysics and Biotechnology,  
 Jagiellonian University, Gronostajowa 7, 30-387 Kraków*

<sup>4</sup> *Kardio-Med Silesia, Marii Curie-Skłodowskiej 10C, 41-800 Zabrze*

Duchenne muscular dystrophy (DMD) is an X-linked genetic disorder caused by mutations in gene encoding dystrophin. Lack of this protein leads to progressive muscle weakness followed by respiratory failure and cardiomyopathy, which is a major cause of death of DMD patients. To investigate the mechanisms of the cardiomyopathy, induced pluripotent stem cells (hiPSC) and hiPSC-derived cardiomyocytes are used as the models for in vitro studies. In our studies, we utilize hiPSCs lines derived from fibroblasts of two DMD patients, as well as isogenic cell lines introduced by deletion of exon 50 in DMD gene in control hiPSCs using CRISPR/Cas9 strategy. Preliminary patch-clamp experiments evaluating differences in electrophysiology demonstrated abnormalities in electrophysiological activity, and thus the activity of various ion channels in DMD cardiomyocytes. It includes a faster restoration of resting potential indicating on more active calcium-dependent potassium channels, while intracellular calcium oscillations measurements confirmed disturbed calcium signaling. Moreover, as hiPSC-CMs resemble more fetal phenotype and 2D cell culture does not reflect sufficiently physiological conditions and architecture of original tissue, 3D cell culture system was established. Gene expression analysis of cardiomyocytes growing in a form of 3D spheres suggest more mature characteristic of cells, therefore this model can be also used for better understanding of mechanisms of cardiomyopathy in DMD. In conclusion, the successful introduction of isogenic lines differing only at locus of interest allows a more precise study of the effects of the mutation. In DMD cardiomyocytes the differences in the electrophysiological activity were observed, and therefore in the subsequent studies, more precise determination of the types of ion channels responsible for the observed changes was planned.

Supported by the MAESTRO grant No. 2018/30/A/NZ3/00412 from the National Science Centre of Poland (J.D.).

## EKSPRESJA PRZEDSIONKOWYCH ŁAŃCUCHÓW LEKKICH MIOZYNY (ALC1) W KOMORZE SERCA OSOBY DOROSŁEJ PO NIEDOKRWIENIU I REPERFUZJI

EXPRESSION OF MYOSIN ATRIAL LIGHT CHAINS (ALC1)  
IN AN ADULT'S VENTRICLE AFTER ISCHEMIA AND REPERFUSION

MARTA BANASZKIEWICZ, AGNIESZKA OLEJNIK, ANNA KRZYWONOS-ZAWADZKA,  
IWONA BIL-LULA

*Zakład Chemii Klinicznej i Hematologii Laboratoryjnej, Katedra Analityki Medycznej,  
Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Borowska 211, 50-556 Wrocław*

**Wstęp:** W stanie fizjologicznym w przedsiionkach serca osoby dorosłej występują wyłącznie przedsiionkowe (ALC1), a w komorach komorowe (VLC1) łańcuchy lekkie miozyny. Na skutek uszkodzenia niedokrwiennie-reperfuzyjnego (IRI) serca działanie aparatu kurczliwego miocytów zostaje zaburzone, co powoduje pojawienie się ALC1 w komorze serca. Celem pracy było zbadanie zmian ekspresji łańcuchów lekkich miozyny w komorze serca osoby dorosłej po IRI.

**Materiały i metody:** Miocyty (HCM) wyizolowane z komórek serca osoby dorosłej podzielono na grupę Aero i I/R. Grupa Aero została poddana warunkom tlenowym (50 min), grupa I/R — po stabilizacji tlenowej (15 min) została wprowadzona w stan niedokrwienia (15 min) i następczej reperfuzyji (20 min). Uszkodzenie HCM zbadano testem aktywności LDH w supernatantach. Ekspresję genów ALC1 i VLC1 zmierzono metodą molekularną RQ-PCR, zawartość białek ALC1 i VLC1 w HCM określono testem ELISA. Metodą immunofluorescencji pośredniej (IFC) oceniono komórkową ekspresję ALC1.

**Wyniki:** Wykazano wzrost aktywności LDH w grupie I/R w porównaniu z Aero ( $p=0,02$ ), co potwierdziło niedokrwienne uszkodzenie HCM. Zaobserwowano wyższą ekspresję genu ALC1 oraz wyższą zawartość białka ALC1 w grupie I/R w odniesieniu do Aero ( $p=0,03$ ,  $p<0,001$ , odpowiednio). Ekspresja genu VLC1 była niższa w grupie I/R w stosunku do Aero ( $p<0,01$ ), podobnie zawartość białka VLC1 była niższa w grupie I/R w odniesieniu do Aero, jednak wynik nie był istotny statystycznie ( $p=0,18$ ). Metodą IFC wykazano zwiększoną ekspresję ALC1 w miocytach w grupie I/R w stosunku do Aero ( $p=0,01$ ).

**Wnioski:** Wzrost ekspresji ALC1 i spadek VLC1 w komorze serca po I/R może być wyrazem poprawy czynności serca poprzez adaptację aparatu kurczliwego miocytów do warunków I/R.

WIELOCZYNNIKOWY FENOTYP DYSFUNKCJI ŚRÓDBŁONKA  
 WYPRZEDZAJĄCY ROZWÓJ BLASZEK MIAŻDŻYCOWYCH  
 U MYSZY ApoE/LDLR-/-

MULTIFACTORIAL PHENOTYPE OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION PRIOR TO THE  
 DEVELOPMENT OF ATHEROSCLEROTIC PLAQUES IN ApoE/LDLR-/- MICE

ANNA BAR<sup>1</sup>, MARTA TARGOSZ-KORECKA<sup>2</sup>, JOANNA SURAJ-PRAŻMOWSKA<sup>1</sup>,  
 BARTOSZ PRONIEWSKI<sup>1</sup>, AGNIESZKA JASZTAŁ<sup>1</sup>, BRYGIDA MARCZYK<sup>1</sup>,  
 MAGDALENA STERNAK<sup>1</sup>, MAGDALENA PRZYBYŁO<sup>3</sup>,  
 ANNA KURPIŃSKA<sup>1</sup>, MARIA WALCZAK<sup>1,4</sup>, RENATA KOSTOGRYS<sup>5</sup>,  
 MAREK SZYMOŃSKI<sup>2</sup>, STEFAN CHŁOPICKI<sup>1,6</sup>

<sup>1</sup> Jagiellonian Centre for Experimental Therapeutics (JCET), Jagiellonian University,  
 Bobrzyńskiego 14, 30-348 Kraków

<sup>2</sup> Faculty of Physics, Astronomy and Applied Computer Science, Center for Nanometer-scale Science  
 and Advanced Materials, NANOSAM, Jagiellonian University, Łojasiewicza 11, 30-348, Kraków

<sup>3</sup> Wrocław University of Science and Technology, Department of Biomedical Engineering,  
 Wybrzeże Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław

<sup>4</sup> Chair and Department of Toxicology, Jagiellonian University Medical College, Medyczna 9, 30-688 Kraków

<sup>5</sup> Faculty of Food Technology, Department of Human Nutrition, University of Agriculture H. Kollataja  
 in Kraków, Balicka 122, 30-149 Kraków

<sup>6</sup> Chair of Pharmacology, Jagiellonian University Medical College, Grzegórzecka 16, 31-531 Kraków

**Introduction:** The impairment of endothelium-dependent vasodilation, increased endothelial permeability and glycocalyx degradation are all important pathophysiological components of endothelial dysfunction. The aim of the present study was to test whether glycocalyx injury precedes other features of endothelial dysfunction or these events coincide in endothelial dysfunction in ApoE/LDLR-/- mice.

**Methods and Results:** In 4–8-week-old ApoE/LDLR-/- mice, at the stage prior to the development of atherosclerotic plaques (Histology), impaired acetylcholine-induced vasodilation (MRI), reduced nitric oxide production in the aorta (EPR) and increased endothelial permeability (MRI) were all observed; however, flow-mediated dilatation in the femoral artery (MRI) was fully preserved. In 4-week-old mice, glycocalyx coverage was reduced and endothelial stiffness (AFM) was increased. Early changes in endothelial function were also featured by increased plasma concentration of biomarkers (microLC/MS-MRM) of glycocalyx disruption (ESM-1), biomarkers of endothelial inflammation (sVCAM-1), increased vascular permeability (Angpt-2) and alterations in haemostasis (t-PA and PAI-1). In 28-week-old mice, at the stage of advanced atherosclerotic plaque development, apart from some exceptions (e.g. further increased in permeability, impaired

flow-mediated vasodilation), nearly all features of endothelial dysfunction were changed to a similar extent as in early pre-atherosclerotic phase.

**Conclusion:** Taking advantage of MRI in vivo and other complementary approaches to comprehensively characterize endothelial dysfunction we demonstrated that even at the very early stage prior to the development of atherosclerotic plaques, endothelial dysfunction is a complex multifactorial response, that has not been previously appreciated. These results have pathophysiological, diagnostic as well as therapeutic significance.



## OBRAZOWANIE BIOLUMINESCENCJI DLA MONITOROWANIA SZLAKÓW MIGRACYJNYCH IMPLANTOWANYCH KOMÓREK MACIERZYSTYCH

BIOLUMINESCENT IMAGING FOR MONITORING OF MIGRATION  
OF INTRACARDIALLY IMPLANTED HUMAN STEM CELLS

KAROLINA BEDNAROWICZ<sup>1</sup>, KATARZYNA FIEDOROWICZ<sup>1</sup>, ANNA RUGOWSKA<sup>1</sup>,  
AGNIESZKA ZIMNA<sup>1</sup>, TOMASZ JAN KOLANOWSKI<sup>2</sup>, NATALIA ROZWADOWSKA<sup>2</sup>,  
MACIEJ KURPISZ<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zakład Biologii Rozrodu i Komórek Macierzystych, Instytut Genetyki Człowieka, Polska Akademia Nauk,  
Strzeszyńska 32, 60-479 Poznań

<sup>2</sup> Zakład Patologii Molekularnej, Instytut Genetyki Człowieka, Polska Akademia Nauk,  
Strzeszyńska 32, 60-479 Poznań

**Wstęp:** Celem pracy było zobrazowanie szlaków migracyjnych oraz długości utrzymywania się przeszczepu implantowanych ludzkich komórek macierzystych do serca myszy.

**Materiały i metody:** Grupy myszy NODScid zdrowych ( $n = 12$ ) oraz pozawałowych ( $n = 18$ ) podzielono na 3 podgrupy, z których każda otrzymała iniekcję intramiokardialną innego zestawu komórek: 1. Mioblasty natywne (MIO), 2. Mieszaninę MIO i komórek mezenchymalnych (MIO+MSC), 3. Mieszaninę MIO z nadekspresją koneksyny 43 i komórek mezenchymalnych (MIOCx43+MSC). Mioblasty ludzkie transfekowane były plazmidem z nadekspresją genu lucyferazy, które po podaniu lucyferyny wytwarzały sygnał bioluminescencji. Myszy po interwencji komórkowej obrazowane były co 7 dni przez okres 5 tygodni w systemie IVIS Lumina III. Dane były porównane T-testem sparowanym.

**Wyniki:** Wśród myszy zdrowych zauważalny był stopniowy spadek sygnału bioluminescencji we wszystkich grupach badanych. Najlepiej utrzymywał się wariant komórkowy: mioblasty z nadekspresją genu koneksyny 43 z komórkami mezenchymalnymi (MIOCx43+MSC). Jednak nie było różnic statystycznych pomiędzy sercem zdrowym i zawałowym w grupie testowej MIOCx43+MSC ( $p$ -value = 0,1609). W grupie myszy pozawałowych najlepszą przeżywalność przeszczepu wykazał wariant komórkowy: mioblasty natywne z komórkami mezenchymalnymi (MIO+MSC). Różnice między sercem zdrowym a zawałowym pomiędzy grupami MIO+MSC były istotne statystycznie ( $p$ -value = 0,0361). Nie było różnic statystycznych pomiędzy wariantem MIOCx43+MSC a MIO+MSC w sercu pozawałowym ( $p$ -value = 0,0759).

**Wnioski:** Spadek bioluminescencji we wszystkich wariantach komórkowych u myszy zdrowych świadczy o postępującym zanikaniu przeszczepu komórkowego. Wzrost bioluminescencji, (liczebności komórek), we wszystkich wariantach u myszy pozawałowych, może być spowodowany proliferacją transplantowanych komórek, w zatrofizowanym obszarze serca.

OCHRONA SERCA PRZED USZKODZENIEM  
NIEDOKRWIENNO-REPERFUZYJNYM PRZY ZASTOSOWANIU  
5-FENOKSYFENYLO-5-ALKILOAMINOAZOTANU  
KWASU BARBITUROWEGO (FAAKB)

PROTECTION OF THE HEART AGAINST ISCHEMIA-REPERFUSION INJURY USING  
5-PHENOXYPHENYL-5-ALKYLAMINO NITRATE BARBITURIC ACID (FAAKB)

IWONA BIL-LULA<sup>1</sup>, ALEKSANDRA FRAN CZAK<sup>1,2</sup>, MARTA BANASZKIEWICZ<sup>1</sup>,  
ANNA KRZYWONOS-ZAWADZKA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zakład Chemii Klinicznej i Hematologii Laboratoryjnej, Katedra Analityki Medycznej, Wydział Farmaceutyczny,  
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Borowska 211, 50-556 Wrocław

<sup>2</sup> Department of Pharmacology, College of Medicine, University of Saskatchewan, 107 Wiggins Rd.,  
Saskatoon (Canada)

**Wstęp:** Standardową procedurą interwencyjną w zawale serca jest reperfuzja tętnic wieńcowych. Wiąże się ona jednak z generacją reaktywnych form tlenu (ROS) oraz azotu (RNS), co z kolei przyczynia się do uszkodzenia niedokrwienno-reperfuzyjnego (IRI). Nadmierna nitracja/nitrozylacja lekkich łańcuchów miozyny (MLC1) zwiększa ich degradację przez metaloproteinazy (MMPs), czego efektem są zaburzenia kurczliwości serca po niedokrwieniu i reperfuzji (I/R).

**Hipoteza:** Jednoczesne zahamowanie MMP-2 oraz podaż wazodilatoryjnego NO poprzez podanie hybrydy FAAKB (inhibitora MMP/donora NO) przyczyni się do odgraniczenia IRI.

**Metody:** Model globalnego niedokrwienia serca ex vivo, model I/R na izolowanych kardiomiocytach szczurzych ex vivo, model I/R na linii ludzkich kardiomiocytów, poddane stabilizacji w warunkach tlenowych, ischemii oraz reperfuzji. Oceniono ekspresję MMP-2, MMP-9 i iNOS. Zmierzono parametry hemodynamiczne serca, oznaczono MMP-2, LDH, MYL3 oraz kurczliwość kardiomiocytów.

**Wyniki:** Zastosowanie FAAKB (10 μM) skutkowało zmniejszeniem ekspresji MMP-2 (16 razy), MMP-9 (10 razy) i iNOS (14 razy). Odzysk funkcji mechanicznej serca (RPP), przepływ wieńcowy (CF), tętno serca (HR) uległy istotnej poprawie, w wyniku obniżenia aktywności MMP-2 (o 52%) w homogenatach serc po I/R. Stres oksydacyjny silnie uszkodził serce, natomiast podanie FAAKB chroniło je przed degradacją proteolityczną i poprawiło kurczliwość serca ( $p < 0,05$ ).

**Wnioski:** Podanie FAAKB do serc poddanych stresowi oksydacyjnemu poprawia mechaniczną funkcję serca poprzez obniżenie aktywności MMP-2 i iNOS oraz zmniejszenie degradacji białek kurczliwych. Podaż egzogenego NO zwiększa jego biodostępność i działa wazodilatoryjnie.

## POTENCJALNY WPŁYW NISKIEGO STĘŻENIA ADIPONEKTYNY NA UPOŚLEDZANIE FUNKCJI LEWEJ KOMORY SERCA U SZCZURÓW Z NIEDOCZYNNOŚCIĄ TARCZYCY

POTENTIAL EFFECT OF LOW ADIPONECTIN CONCENTRATION ON LEFT  
 VENTRICULAR DYSFUNCTION IN HYPOTHYROID RATS

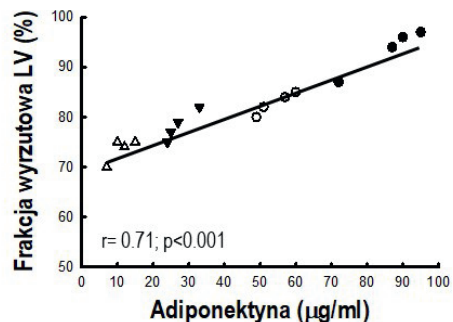
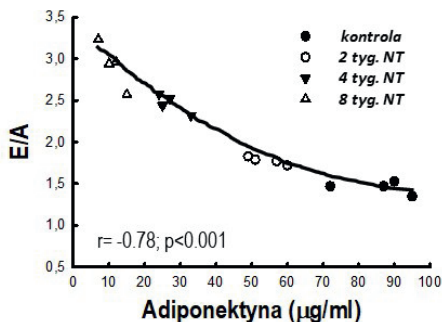
AGNIESZKA BIŃCZAK, MONIKA DUDA

*Zakład Fizjologii Klinicznej, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego,  
 Marymoncka 99/103, 01-813 Warszawa*

**Celem** badania jest poszukiwanie nowych szlaków sygnalizacyjnych odpowiedzialnych za przebudowę i rozwój dysfunkcji lewej komory serca (LV) u szczurów z niedoczynnością tarczycy (NT), w tym ocena wpływu na te zjawiska kardioprotekcyjnej adiponektyny.

**Metodyka:** W badaniu wykorzystano samice szczurów rasy Wistar, które przydzielono do 4 grup: kontrola oraz 2-, 4- i 8-tygodniowa NT indukowana tiamazolem. W badaniu oceniono budowę i funkcję LV (echo), poziom TSH i adiponektyny w osoczu oraz aktywność AMPK w LV.

**Wyniki:** NT potwierdzono wzrostem poziomu TSH. W badaniu echokardiograficznym u zwierząt z NT obserwowano postępujące progresywnie: (a) przebudowę LV — powiększanie wymiaru końcowo-rozkurczowego; (b) upośledzenie funkcji rozkurczowej — wzrost wskaźnika E/A i wydłużanie czasu deceleracji fali E; (c) upośledzenie funkcji skurczowej — spadek wartości frakcji wyrzutowej. Zmianom tym towarzyszył stopniowy spadek stężenia adiponektyny w osoczu i redukcja fosforylacji adiponektyno-zależnej kinazy AMPK w LV. Zaobserwowano silną korelację pomiędzy poziomem adiponektyny a E/A oraz frakcją wyrzutową LV.



**Wnioski:** Wraz z czasem trwania NT obserwowano postępującą przebudowę oraz dysfunkcję rozkurczową i skurczową LV. Nieprawidłowościom tym towarzyszył progresywny spadek poziomu adiponektyny w osoczu i aktywności AMPK w LV. Wyniki te sugerują, że przyczyną opisanych zaburzeń w LV, obok zmian w T3/T4-zależnych białkach kardiomiocytów, może być spadek poziomu kardioprotekcyjnej adiponektyny.

IDENTYFIKACJA GLIKOWANYCH I ACETYLOWANYCH RESZT  
LIZYNOWYCH W LUDZKIEJ  $\alpha$ 2-ANTYPLAZMINIEIDENTIFICATION OF GLYCATED AND ACETYLATED LYSINE RESIDUES  
IN HUMAN  $\alpha$ 2-ANTIPLASMIN

AGATA BRYK<sup>1</sup>, DOMINIK CYSEWSKI<sup>2</sup>, MICHAŁ DADLEZ<sup>2</sup>, ANETTA UNDAŚ<sup>1,3,4</sup>

<sup>1</sup> *Krakowski Szpital Specjalistyczny im. Jana Pawła II, Prądnicka 80, 31-202 Kraków*

<sup>2</sup> *Instytut Biochemii i Biofizyki, Polska Akademia Nauk, Pawińskiego 5a, 02-106 Warszawa*

<sup>3</sup> *Instytut Kardiologii, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, Prądnicka 80, 31-202 Kraków*

<sup>4</sup> *Krakowskie Centrum Badań i Technologii Medycznych, Krakowski Szpital Specjalistyczny im. Jana Pawła II, Prądnicka 80, 31-202 Kraków*

Posttranslacyjna modyfikacja białka poprzez lizyny może zmienić jego funkcję.  $\alpha$ 2-antyplazmina, kluczowy inhibitor fibrylizy, zawiera 19 lizyn. Celem pracy było zidentyfikowanie miejsc glikacji i acetylacji w ludzkiej  $\alpha$ 2-antyplazminie oraz weryfikacja hipotezy, czy na lizynach  $\alpha$ 2-antyplazminy dochodzi do konkurencji pomiędzy glikacją a acetylacją. Przeanalizowaliśmy ludzką  $\alpha$ 2-antyplazminę (1) nieinkubowaną; (2) inkubowaną ze wzrastającymi stężeniami  $\beta$ -D-glukozy (0, 5, 10, 20, 50 mM); (3) inkubowaną z 1,6 mM kwasem acetylosalicylowym (ASA) i (4) inkubowaną z 1,6 mM ASA i 50 mM  $\beta$ -D-glukozy, z zastosowaniem systemu chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrem mas. W  $\alpha$ 2-antyplazminie znaleziono 11 miejsc glikacji i 10 miejsc acetylacji. Inkubacja z  $\beta$ -D-glukozą była związana z glikacją 4 z 6 lizyn, których znaczenie dla interakcji z plazminą zostało udowodnione poprzednio. Dziewięć miejsc glikacji na  $\alpha$ 2-antyplazminie inkubowanej z  $\beta$ -D-glukozą było wspólnych z miejscami acetylacji w  $\alpha$ 2-antyplazminie inkubowanej z ASA, a inkubacja jednocześnie z  $\beta$ -D-glukozą i ASA była związana ze zmniejszoną acetylacją we wszystkich tych miejscach. W przypadku K-182 i K-448 zmniejszona acetylacja wiązała się ze zwiększoną glikacją w porównaniu z  $\alpha$ 2-antyplazminą inkubowaną z 50 mM  $\beta$ -D-glukozą. Lizyna K-24, znajdująca się w pobliżu miejsca cięcia  $\alpha$ 2-antyplazminy, ulegała jedynie acetylacji. Pomimo to inkubacja  $\alpha$ 2-antyplazminy jednocześnie z 50 mM  $\beta$ -D-glukozą i ASA była związana z brakiem acetylacji na tej lizynie.

**Wniosek:** Ludzka  $\alpha$ 2-antyplazmina jest glikowana i acetylowana w kilku miejscach. Na dwóch lizynach  $\alpha$ 2-antyplazminy, K-182 i K-448, dochodzi do konkurencji pomiędzy glikacją a acetylacją. Nasze odkrycie sugeruje prawdopodobne istotne zmiany w funkcji  $\alpha$ 2-antyplazminy przy wysokiej glikemii i podczas stosowania aspiryny.

Praca finansowana przez Narodowe Centrum Nauki, nr grantu: 2016/21/N/NZ5/01425 (A.H.B.).

## OCENA CZYNNOŚCI SERCA W GENETYCZNYM MODELU MIAŻDŻYCY

### EVALUATION OF CARDIAC FUNCTION IN GENETIC MODEL OF ATHEROSCLEROSIS

ALICJA BULIŃSKA<sup>1</sup>, PAULINA MIERZEJEWSKA<sup>1</sup>, MARTA TOMCZYK<sup>1</sup>,  
IWONA PELIKANT-MAŁECKA<sup>2</sup>, BARBARA KUTRYB-ZAJĄC<sup>1</sup>, PATRYCJA JABŁOŃSKA<sup>1</sup>,  
EWA SŁOMIŃSKA<sup>1</sup>, RYSZARD SMOLEŃSKI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Department of Biochemistry, Medical University of Gdansk, Dębinki 1, 80-211 Gdańsk*

<sup>2</sup>*Department of Medical Laboratory Diagnostics, Medical University of Gdansk,  
Dębinki 7, 80-211 Gdańsk*

**Rationale:** Hyperlipidemia may lead to impairment of the mitochondrial function affecting respiratory chain function and leading to excessive production of reactive oxygen species. However, exact mechanism of mitochondrial changes in cardiomyocytes exposed to high lipid environment is still unknown.

**Objective:** The aim of this study was to investigate the activity of respiratory chain complexes in the heart in experimental model of atherosclerosis and to correlate those results with cardiac function.

**Methods:** Function of isolated cardiac mitochondria was tested in 3-, 6-, 12- and 24 months LDL Receptor and Apolipoprotein E knock-out mice (LA<sup>-/-</sup>,  $n=5$  in each age group). C57Bl/6J wild types (WT,  $n=5$  in each age group) were used as controls. The analysis was performed using the Seahorse XFp metabolic flux analyzer, by recording the oxygen consumption rate. Function of the heart was measured by echocardiography. Heart fragments of 6 and 12 month old mice were used to determine the activity of mitochondrial marker-citrate synthase.

**Results:** Paradoxically, isolated mitochondria from 6-months LA<sup>-/-</sup> mice exhibited increased respiratory rates in comparison to WT. These observations have been reversed in older mice. These changes correlated with activity of citrate synthase activity, what suggesting increased mitochondrial density in the 6 months LA<sup>-/-</sup> mice heart, but decreased in older. The echocardiographic examination demonstrated decreased stroke Volume, Ejection Fraction and Fractional Shortening in older LA<sup>-/-</sup> mice.

**Conclusion:** We identified two phase mitochondrial effect in dyslipidemic mice. Initially, increased mitochondrial function was observed while in older mice diminished cardiac mitochondria function and number was noted. This correlated with maintained or improved cardiac mechanical function in young and cardiac dysfunction in old animals.

OD POMYSŁU DO WDROŻENIA.  
ROLA BADAŃ EKSPERYMENTALNYCH I PRZEDKLINICZNYCH  
W KARDIOLOGII OPARTA NA PRZYKŁADACH

FROM BENCH TO BEDSIDE. THE ROLE OF PRECLINICAL RESEARCH  
IN CARDIOLOGY BASED ON EXAMPLES

PIOTR BUSZMAN

*Centrum Badawczo-Rozwojowe, American Heart of Poland, Czajek 41, 40-534 Katowice  
Wydział Lekarski i Nauk o Zdrowiu, Krakowska Akademia im. Andrzeja Frycza Modrzewskiego,  
Gustawa Herlinga-Grudzińskiego 1, 30-705 Kraków*

Szybki rozwój nowych technologii postawił przed kardiologią eksperymentalną i przedkliniczną nowe wyzwania. Wymagania stawiane tej dyscyplinie nie ograniczają się już jedynie do oceny podstawowych procesów leżących u podłoża danej choroby i oceny bezpieczeństwa danej terapii czy technologii, ale uwzględniają również potrzebę oceny i przewidywania skutków ich implementacji w warunkach klinicznych. W chwili obecnej niniejsze badania mają niejako możliwość przewidywania, czyli translacji wyników klinicznych. Nowe modele matematyczne, fantomowe i zwierzęce chorób układu krążenia pozwalają w coraz większym stopniu przewidzieć nie tylko bezpieczeństwo, ale skuteczność kliniczną nowych technologii i terapii pod postacią wykonalności danej procedury, jak również jej długotrwałego efektu, tj. funkcjonalności oraz odpowiedzi biologicznej. A zatem, pożądane jest wprowadzenie do praktyki klinicznej i wdrożenia takich terapii, których wynik będzie bardziej przewidywalny. Na przykładach m.in. nowej generacji stentów metalicznych, balonów powlekanych lekiem, przeszskórnych zastawek zostanie omówiona droga od pomysłu do wdrożenia do praktyki klinicznej dzięki skrupulatnym, ale i przewidującym badaniom przedklinicznym.

## WPŁYW WEWNĘTRZNEJ TEMPERATURY CIAŁA SZCZURA NA WIELKOŚĆ ZAWAŁU SERCA

RATS IN HYPOTHERMIA EXPERIENCE DRAMATICALLY DECREASED AREA  
 OF NECROSIS ASSESSED IN TETRAZOLIUM STAINING  
 DURING ISCHEMIA-REPERFUSION INJURY

TOMASZ CIESIELSKI, MAŁGORZATA WOJCIECHOWSKA, KATARZYNA CZARZASTA,  
 MAGDALENA NIEDZIELA, ANITA TROJANOWSKA, SONIA BORODZICZ,  
 AGNIESZKA CUDNOCH-JĘDRZEJEWSKA

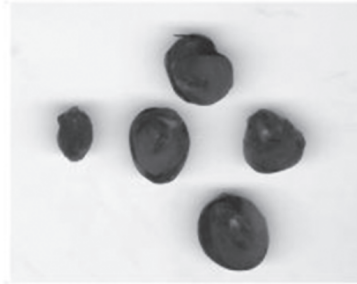
*Laboratorium Katedry i Zakładu Fizjologii Doświadczalnej i Klinicznej, Centrum Badań Przedklinicznych,  
 Warszawski Uniwersytet Medyczny, Banacha 1B, 02-097 Warszawa*

**Aim:** To explore, if internal temperature of rats influences the extent of ischemia-reperfusion injury.

**Methods:** The experiments were undertaken in SPRD rats, both sexes. The animals were subjected to 30 min of ischemia due to ligation of anterior descending artery, followed by 60 min of reperfusion. During the experiments we monitored the internal temperature of animals trying to keep it constant, but in different rats at different levels (35° to 39°C). The area of necrosis was assessed by tetrazolium staining.

**Results:** Below 35°C 30 min of ischemia and 60 minutes of reperfusion did not cause any insult to the myocardium. The animals subjected to temperature above 39°C developed infarction that covered the entire vasculature of the anterior descending artery (Fig. 1 — Infraction covers entire vasculature of the anterior descending artery in animal subjected to temperature above 39°C vs any insult of myocardium in animal subjected to temperature below 35°C).

**Conclusions:** The extensive of ischemia-reperfusion injury significantly depends on the internal temperature of animals. We believe that this observation could be transferred into clinical practice.



## OPTIMALIZACJA I CHARAKTERYSTYKA SĄCZENIA WSPOMAGANEGO PODCIŚNIENIEM — NOWEJ METODY IZOLACJI MIKROPEŁCZERZYKÓW ZEWNĄTRZKOMÓRKOWYCH

OPTIMIZATION AND CHARACTERIZATION OF LOW VACUUM FILTRATION PROCEDURE —  
NOVEL METHOD FOR THE ISOLATION OF ENDOTHELIAL EXTRACELLULAR VESICLES

ANNA DROŹDŹ<sup>1</sup>, AGNIESZKA KAMIŃSKA<sup>1</sup>, MAGDALENA SURMAN<sup>2</sup>,  
AGNIESZKA GONET-SURÓWKA<sup>3</sup>, ANDRZEJ WRÓBEL<sup>1</sup>, EWA STĘPIEŃ<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Department of Medical Physics, Faculty of Physics, Astronomy and Applied Computer Science  
of the Jagiellonian University, Łojasiewicza 11, 30-348 Kraków*

<sup>2</sup> *Institute of Zoology and Biomedical Research of the Jagiellonian University, Gronostajowa 9, 30-387 Kraków*

<sup>3</sup> *Faculty of Chemistry of the Jagiellonian University, Gronostajowa 2, 30-387 Kraków*

**Introduction:** Despite recent developments in the field of extracellular vesicles (EVs) isolation methods, the process remains challenging, mainly due to the low isolation yield, co-precipitation of proteins, changes in biophysical properties of EVs and time consuming procedures. Answering these problems, we created and validated new EVs isolation method — Low Vacuum Filtration (LVF) and compared it with two most commonly applied procedures — differential centrifugation (DC) and ultracentrifugation (UC).

**Methods:** The main element of the isolation system is dialysis membrane (MWCO = 1.000 kDa) combined with the low vacuum pump, assuring the high yield of isolation and short procedure time. EVs isolated from endothelial cells culture media have been characterized by a) transmission electron microscopy (TEM), b) nanoparticle tracking analysis (NTA), c) blot and d) Fourier-Transform Infrared Spectroscopy (FTIR).

**Results:** TEM measurement visualized EVs with size of a) LVF:  $201 \pm 136$  nm, b) DC:  $256 \pm 140$  nm and c) UC:  $78 \pm 25$  nm. For LVF and DC EVs size was confirmed by NTA, for UC estimated size was higher ( $224 \pm 112$  nm). NTA showed substantial increase in EVs concentration, compared to the initial sample: a) LVF: 22 fold, b) DC: 13 fold, c) UC: 35 fold. Western blot analysis confirmed the presence of exosome (hsp70) and ectosome (Arf6) markers in: a) LVF — CHsp70 =  $0.48 \pm 0.14$  AU and CArf6 =  $0.05 \pm 0.02$  AU, b) DC — CHsp70 =  $0.04 \pm 0.01$  AU and CArf6 =  $0.07 \pm 0.02$  AU) and c) UC (CHsp70 =  $0.23 \pm 0.12$  AU and CArf6 =  $0.07 \pm 0.04$  AU).

We observed correlation between ATR-FTIR spectra quality (amid I: lipids ratio) and the EVs and proteins concentration.

**Conclusion:** LVF method is an easy and fast EVs isolation method which allows for isolation of both ectosomes and exosomes from high volume sources and could be an efficient alternative for commonly applied methods.

The authors acknowledge financial support from National Science Centre of Poland (grant no. 2017/25/N/ST5/00831).



## TERAPIE KOMÓRKOWE W NIEWYDOLNOŚCI SERCA

### CELL THERAPY IN HEART FAILURE

JÓZEF DULAK

*Department of Medical Biotechnology, Faculty of Biochemistry, Biophysics and Biotechnology,  
Jagiellonian University, Gronostajowa 7, 30-387 Kraków  
Kardio-Med Silesia, Marii Curie-Skłodowskiej 10C, 41-800 Zabrze*

Skeletal muscle and the heart differ in their regenerative potential, as the former can be fully repaired by the action of satellite cells, the bona fide stem cells, while the heart does not regenerate after myocardial infarction (MI). Adult cardiomyocytes do not efficiently proliferate and there are not stem cells in the heart. Importantly, no available treatment enables restoration of functional cardiomyocytes in place of fibrotic scar formed in the damaged myocardium. Various, mistakenly called “stem cell” therapies based on the cells lacking capacity to differentiate into cardiomyocyte appeared to be non-effective (for review see: Langrzyk et al. 2018). Thus, there is an immense need for biologically justified therapies which would allow for recovery of viable myocardium upon MI. Pluripotent stem cells, namely embryonic stem cells and induced pluripotent stem cells (iPSC), which can efficiently differentiate into cardiomyocytes offer the valid possibility for treatment of the heart failure.

In this talk the overview of the cell-based strategies for heart repair will be presented followed by demonstration of our current pre-clinical results in which the iPSC-derived cardiomyocytes can be applied for treatment of MI and heart failure in mice and pig models of heart injury.

Langrzyk A, Nowak WN, Stępniewski J, Jaźwa A, Florczyk-Soluch U, Józkowicz A, Dulak J. Critical view on mesenchymal stromal cells in regenerative medicine. *Antioxid Redox Signal.* 2018 Jul 10; 29 (2): 169-190. doi: 10.1089/ars.2017.7159.

Supported by the STRATEGMED (PHOENIX) grant No. STRATEGMED2/269415/11/NCBR/2015 from the National Centre for Research and Development of Poland.

CHARAKTERYSTYKA I WŁAŚCIWOŚCI FIBRYNOLITYCZNE  
MIKROPĘCZERZYKÓW POCHODZĄCYCH Z ŚRÓDBŁONKA  
OTRZYMYWANYCH W WARUNKACH HIPERGLIKEMIICHARACTERISTICS AND FIBRINOLYTIC PROPERTIES OF ENDOTHELIAL MICROVESICLES  
OBTAINED UNDER HYPERGLYCAEMIA

MARTYNA DURAK-KOZICA<sup>1</sup>, ANDRZEJ WRÓBEL<sup>1</sup>, MARK PLATT<sup>2</sup>, RUSH MAUGI<sup>2</sup>,  
MAGDALENA SURMAN<sup>3</sup>, MAŁGORZATA PRZYBYŁO<sup>3</sup>, ZBIGNIEW BASTER<sup>4</sup>,  
ZENON RAJFUR<sup>4</sup>, EWA STĘPIEŃ<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zakład Fizyki Medycznej, Wydział Fizyki, Astronomii i Informatyki Stosowanej,  
Uniwersytet Jagielloński, Łojasiewicza 11, 30-348 Kraków

<sup>2</sup> Zakład Chemii, Uniwersytet Loughborough; LE11 3TU Loughborough (Wielka Brytania)

<sup>3</sup> Zakład Glikokoniugatów, Wydział Biologii, Uniwersytet Jagielloński, Gronostajowa 7, 30-387 Kraków

<sup>4</sup> Zakład Biofizyki Molekularnej i Międzyfazowej; Wydział Fizyki, Astronomii i Informatyki Stosowanej,  
Uniwersytet Jagielloński, Łojasiewicza 11, 30-348 Kraków

Mikropęcherzyki krążące pochodzenia komórkowego, które zachowują się jak przekaźniki aktywacji komórek, mogą być wskaźnikami odpowiedzi fibrynolitycznej na proces zapalny lub protrombotyczny. Szczególnie w hiperglikemii fibrynoliza jest zaburzona, a udział mikropęcherzyków w tym procesie nie jest znany.

Celem niniejszych badań było opracowanie protokołu wirowania różnicowego do izolacji mikropęcherzyków z komórek śródbłonna w oparciu o model wirowania zaproponowany przez Mikhaïla Livshitsa. Ponadto w tak opracowanym protokole dokonano charakterystyki i zbadano właściwości fibrynolityczne wyizolowanych mikropęcherzyków. W tym celu zastosowano metody mikroskopowe, cytometrii przepływowej, TRPS (ang. Tuneable Resistive Pulse Sensing), western blot oraz test lizy skrzepu. Model badawczy stanowiły dwie unieśmiertelnione linie komórkowe: TIME oraz HUVEC, które hodowano w medium podstawowym w warunkach normoglikemii (5 mM D-glukoza), hiperglikemii (25 mM D-glukoza) oraz kontroli osmomolarnej (5 mM L-glukoza). Analiza zdjęć z mikroskopu elektronowego oraz pomiarów TRPS pozwoliła ocenić wielkość ekzosomów w przedziale 10–700 nm, a egzozomów 10–500 nm. Uzyskane wyniki wskazują zanieczyszczenia populacji egzozomów oraz ekzosomów, co potwierdziła analiza obecności markerów, tj. ARE, Hsp70 oraz CD151 na powierzchni pęcherzyków. Pomiar potencjału zeta ( $\zeta$ ) wykazał tendencje agregacyjne zarówno ekzosomów, jak i egzozomów.

Dodatkowo wykazano obecność receptora uPAR na powierzchni mikropęcherzyków. Przeprowadzony test skrzepu oraz test kolorymetryczny wykazały, iż wyizolowane pęcherzyki posiadają właściwości fibrynolityczne oraz aktywność urokinazy. Pęcherzyki wyizolowane z warunków hiperglikemicznych wykazują mniejszą zdolność do internalizacji. W badaniu pokazano możliwą rolę mikropęcherzyków wyizolowanych z komórek śródbłonna w formowaniu i lizie skrzepu fibrynowego, co może mieć związek z rozwojem chorób sercowo-naczyniowych u osób chorych na cukrzycę.

Praca finansowana przez Narodowe Centrum Nauki, nr grantu: 2014/15/N/NZ5/01606.

## WPŁYW INTEGRYNY $\alpha 2\beta 1$ NA REGULACJĘ UWALNIANIA INTERLEUKINY-6 PRZEZ FIBROBLASTY SERCA HODOWANE NA ŻELACH O RÓŻNEJ TWARDOŚCI

$\alpha 2\beta 1$  INTEGRIN INFLUENCE ON IL-6 RELEASE FROM CARDIAC FIBROBLAST  
CULTURED ON DIFFERENT PHYSICAL CONDITIONS

MAŁGORZATA GAŁDYSZYŃSKA, JACEK DROBNIK

*Zakład Patofizjologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Żeligowskiego 7/9, 90-752 Łódź*

Włóknienie serca związane jest z przebudową tkanki łącznej, polegającej na nadmiernej syntezie białek macierzy zewnątrzkomórkowej. Procesowi temu towarzyszy zwykle stan zapalny i wydzielanie cytokin prozapalnych, w tym interleukiny-6 (IL-6), która wykazuje działanie profibrotyczne w sercu. Celem badań było określenie, czy zmiana twardości podłoża wpływa na uwalnianie IL-6 z komórek fibroblastów pochodzących z serca oraz czy zmiany te są zależne od integryny  $\alpha 2\beta 1$  oraz białek kinazy ogniskowo-adhezyjnej (FAK) i kinazy tyrozynowej Src. W komórkach stabilnej linii fibroblastów pochodzących z serca, hodowanych na żelach poliakrylamidowych o różnym stopniu twardości dokonano analizy gęstości podjednostki  $\alpha 2$  integryny za pomocą cytometrii, a także zbadano poziom ekspresji genów  $\alpha 2$  integryny za pomocą qPCR. Poziom IL-6 — za pomocą testu ELISA. Aby ocenić wpływ integryny  $\alpha 2\beta 1$  na wydzielanie IL-6, wyciszono podjednostkę  $\alpha 2$  lub zastosowano inhibitor  $\alpha 2\beta 1$  TC-I 15. Do hamowania białek sygnałowych wykorzystano FAK inhibitor 14 oraz AZM 475271. Badania wykazały, że zawartość podjednostki  $\alpha 2$  integryny wzrasta zarówno na poziomie białka, jak i ekspresji genów na podłożu o mniejszej twardości. Zmianom tym towarzyszył wzrost poziomu IL-6 na żelu miękkim. Wyciszenie podjednostki  $\alpha 2$  spowodowało spadek poziomu IL-6, podobny efekt uzyskano zahamowując integrynę  $\alpha 2$  inhibitorem TC-I 15. Zahamowanie badanych kinaz nie ma wpływu na regulację wydzielania IL-6. Spadek twardości podłoża powodował wzrost wydzielania IL-6 z fibroblastów pochodzących z serca. Efekt ten jest zależny od aktywacji integryny  $\alpha 2\beta 1$ .

Praca finansowana przez Narodowe Centrum Nauki, nr grantu: 2015/17/B/NZ5/01382.

ROLA STRIATYN W MECHANIZMIE PROZAKRZEPOWEGO  
DZIAŁANIA ALDOSTERONU

ROLE OF STRIATIN IN THE MECHANISM OF ALDOSTERONE PROTHROMBOTIC ACTION

ANNA GROMOTOWICZ-POPŁAWSKA<sup>1</sup>, NATALIA MARCIŃCZYK<sup>1</sup>, MICHAŁ ALEKSIEJCZUK<sup>1</sup>,  
GLENN MERRILL-SKOLOFF<sup>2</sup>, ROBERT FLAUMENHAFT<sup>2</sup>, JOSE ROMERO<sup>3</sup>,  
GORDON WILLIAMS<sup>3</sup>, EWA CHABIELSKA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zakład Biofarmacji, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, Mickiewicza 2C, 15-222 Białystok

<sup>2</sup> Division of Hemostasis and Thrombosis, Beth Israel Deaconess Medical Center, Harvard Medical School,  
3 Blackfan Circle, Boston (USA)

<sup>3</sup> Division of Endocrinology, Diabetes and Hypertension, Brigham and Women's Hospital,  
Harvard Medical School, 221 Longwood Avenue, Boston (USA)

Striatyny (STRN) są białkami odgrywającymi istotną rolę jako przekaźnik sygnałowy w niegenomowych efektach aldosteronu, związanych z utrzymaniem homeostazy organizmu i ciśnienia tętniczego krwi. Badania kliniczne wykazują, że polimorfizm genu STRN jest związany z sodowrażliwym nadciśnieniem u ludzi, a eksperymentalne wykazują zwiększoną kurczliwość i osłabioną relaksację naczyń u myszy STRN+/- . Wykazaliśmy ostatnio, że aldosteron wykazuje niegenomowe efekty w układzie hemostazy, prowadząc do nasilenia procesu zakrzepowego u myszy [1]. Celem niniejszej pracy było określenie roli striatyn w mechanizmie prozakrzepowego działania aldosteronu u myszy.

Badania zostały przeprowadzone na myszach STRN+/-, grupę kontrolną stanowił szczep „wild type” (WT). Zakrzepicę indukowano laserem w tętnicach mięśnia dźwigacza jądra i obserwowano przyżyciowo w mikroskopie konfokalnym. Dodatkowo zwierzęta otrzymały aldosteron (100 µg/kg) w jednorazowej dawce dożylniej 5 minut przed indukcją zakrzepu. Zwierzętom podano także skoniugowane z barwnikami fluorescencyjnymi przeciwciała przeciwko płytkom krwi i fibrynie. Ocenie poddano dynamikę formowania zakrzepu, stopień zaangażowania płytek i depozycji fibryny w obrębie formującego się zakrzepu.

Wyniki badań wykazały nasilony proces zakrzepowy u zwierząt STRN+/- ( $p < 0,001$  vs. WT), w mechanizmie zależnym od zwiększonej aktywacji płytek krwi i kumulacji fibryny w obrębie zakrzepu. Dodatkowo zaobserwowano, że efekt prozakrzepowy aldosteronu jest zdecydowanie silniejszy u zwierząt STRN+/- niż WT ( $p < 0.01$ ).

Wyniki te wskazują, że STRN pełnią funkcję protekcyjną w układzie hemostazy, a ich deficyt nasila proces zakrzepowy, a także nasila prozakrzepowe działanie aldosteronu. Jednocześnie wyniki eksperymentu sugerują, że pacjenci z nadciśnieniem tętniczym i polimorfizmem STRN są szczególnie narażeni na występowanie incydentów zakrzepowo-zatorowych, takich jak udary i zawały.

[1] Gromotowicz-Poplawska A. et al. *Vascul Pharmacol.* 2019 Nov–Dec; 122-123: 106598. doi: 10.1016/j.vph.2019.106598.

W KIERUNKU WIELOPARAMETRYCZNEGO OBRAZOWANIA  
PIERWOTNYCH MYSICH KOMÓREK ŚRÓDBŁONKA NACZYŃ  
WIEŃCOWYCH W CELU ZROZUMIENIA ICH ROLI  
W PATOGENEZIE NIEWYDOLNOŚCI SERCA

TOWARDS HIGH CONTENT IMAGING OF THE PRIMARY MURINE CORONARY  
ENDOTHELIAL CELLS TO UNDERSTAND PATHOGENESIS OF HEART FAILURE

MAREK GROSICKI, STEFAN CHŁOPICKI

*Jagiellonian Centre for Experimental Therapeutics (JCET), Jagiellonian University,  
Bobrzyńskiego 14, 30-348 Kraków*

Though much is now about the disease progression during heart failure, the exact role of endothelial cells, especially of cardiac microvascular endothelial cell (CMEC) in HF, remain elusive. The experimental data suggest, that the events taking place during the HF including e.g. excessive cardiomyocyte-derived PDGF signaling and activity of myocardial angiotensin II-aldosterone pathway results, in the secondary endothelial dysfunction. These leads to impairment of NO production by the CMEC, and further signaling disruption between the endothelial cells and cardiomyocytes. In the end, CMEC are contributing to the HF progression. To better understand the pathophysiological role of the CMECs in the HF, the altered phenotype of the endothelium in an organ-specific way must be determined.

This study aimed to isolate CMECs in the course of the HF development in Tgag\*44, to examine the progression of changes of endothelial phenotype using the high content imaging methodology. Primary endothelial cells were isolated from the mouse hearts using immunomagnetic cell separation methods and introduced to the cell culture. Cells were examined against the lipid bodies and lysosome content, ability of LDL uptake, NO production capacity, mitochondrial content, expression of endothelial as well as pro-inflammatory markers.

Interestingly, in the late phase HF disease progression, a slight difference between the Tgag\*44 derived endothelial cells and the control was detected. Tested cells differ in NO production and lysosome content. No difference in mitochondria or lipid bodies was detected. Isolated cells characterized in high endothelial markers expression as well as in differential selectin and integrins expression.

In conclusion, using the high content imaging methodology, differences between the control and Tgag\*44 mice derived endothelial cells were detected. However, further studies are needed to fully understand the significance of endothelial phenotype alternations.

This work was supported by National Science Centre of Poland, grant Symfonia No. DEC-2015/16/W/NZ4/00070.

ROLA OKSYGENAZY HEMOWEJ-1 ORAZ METABOLIZMU  
LIPIDÓW W DOJRZEWANIU I BINUKLEACJI  
KARDIOMIOCYTÓW OTRZYMANÝCH Z LUDZKICH  
INDUKOWANYCH PLURIPOTENCJALNYCH KOMÓREKROLE OF HEME OXYGENASE-1 AND LIPID METABOLISM IN MATURATION AND  
BINUCLEATION OF CARDIOMYOCYTES DERIVED FROM HUMAN INDUCED PLURIPOTENT  
STEM CELLS

MATEUSZ JEŹ<sup>1</sup>, ALICJA MARTYNIAK<sup>1</sup>, KALINA ANDRYSIĄK<sup>1</sup>, ALAN KANIA<sup>2</sup>,  
ŁUKASZ CHROBOK<sup>2</sup>, KATARZYNA PALUS-CHRAMIEC<sup>2</sup>, MARIAN LEWANDOWSKI<sup>2</sup>,  
ALICJA JÓZKOWICZ<sup>1</sup>, JACEK STĘPNIEWSKI<sup>1</sup>, JÓZEF DULAK<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> *Department of Medical Biotechnology, Faculty of Biochemistry, Biophysics and Biotechnology,  
Jagiellonian University, Gronostajowa 7, 30-387 Kraków*

<sup>2</sup> *Department of Neurophysiology and Chronobiology, Institute of Zoology and Biomedical Research,  
Jagiellonian University, Gronostajowa 9, 30-387 Kraków*

<sup>3</sup> *Kardio-Med Silesia, Marii Curie-Skłodowskiej 10C, 41-800 Zabrze*

Human induced pluripotent stem cells (hiPSCs) can be generated from easily accessible somatic cells and differentiated into virtually any cell type found in adult organism, including cardiomyocytes (CMs). Thus, hiPSCs serve as invaluable tool for cardiac disease modeling and drug toxicity testing. However hiPSCs-derived CMs (hiPSC-CMs) are characterized by immature phenotype and further studies regarding their maturation are required. There is evidence for important role of heme oxygenase-1 (HO-1), a cytoprotective enzyme, in differentiation of CMs in murine model. However it has not been assessed in human CMs so far. Thus the aim of this study was to evaluate the role of HO-1 in hiPSC-CMs maturity. hiPSCs lacking HO-1 expression (HO-1 KO) were derived using CRISPR/Cas9 method and further differentiated into CMs by small molecule-mediated regulation of WNT pathway. Importantly, HO-1 KO hiPSC-CMs demonstrated less mature phenotype than control cells, basing on shortened action potential and lower expression of ion channels. Additionally, we were able to detect terminally differentiated, binucleated hiPSC-CMs. However, the lack of HO-1 doesn't affect percentage of binucleated CMs in a long-term culture.

One of the obstacles in studying binucleation of hiPSCs-CMs might be the culture conditions. Medium rich in glucose does not reflect physiological environment after birth and thus does not promote proper maturation. To partially mimic in vivo process of CM maturation, change of energy source from glucose to fatty acids is essential. Indeed, switch from glucose to palmitate decreased cell-cycle related genes, which is linked with maturation of CMs. However we did not observed change in fraction of binucleated CMs.

Our studies indicates the potential role of HO-1 and palmitate in maturation of hiPSC-derived CMs. Nevertheless the fraction of fully mature, binucleated CMs was not affected in both cases, indicating that CM maturation is more complex process.

ZMIANY W UKŁADZIE AUTONOMICZNYM WYWOŁANE  
BODŹCAMI AKUSTYCZNYMI —  
WPŁYW UPRZEDNICH DOŚWIADCZEŃ

CHANGE IN AUTONOMIC NERVOUS SYSTEM REPOSE TO ACOUSTIC STIMULI —  
INFLUENCE OF PAST EXPERIENCE

MICHAŁ JURCZYK, ANDRZEJ BORYCZKO, AGATA FURGAŁA, KRZYSZTOF GIL

*Katedra Patofizjologii, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, Czysza 18, 33-332 Kraków*

**Wstęp:** Stres jest stale obecny w naszym życiu i stanowi jeden z czynników ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego. Silne przeżycia/doświadczenia z przeszłości mogą wpływać na reakcje układu autonomicznego powodowane przez nagle bodźce.

**Cel:** Celem pracy było porównanie odpowiedzi układu autonomicznego na bodźce dźwiękowe u studentów, spośród których połowa posiadała silne doświadczenia emocjonalne związane z jednym z dźwięków.

**Materiały i metody:** 25 zdrowych ochotników zostało włączonych do badania — studentów uczelni medycznych i niemedycznych. Rejestrowano zmienność rytmu zatokowego oraz hemodynamiczne parametry układu krążenia przez 10 minut w spoczynku oraz przez 10 minut po każdym z bodźców dźwiękowych. W eksperymencie wykorzystano 2 rodzaje dźwięków. Jeden z nich to „dzwonek” (1100 Hz, 4 s, 95 dB), używany podczas egzaminów praktycznych na studiach medycznych, oznaczający kończący się czas na odpowiedź, drugi to standardowa „syrena” emitowana przez generator akustyczny (1100 Hz, 0,5 s, 95 dB).

**Wyniki:** Dzwonek wywoływał znacznie silniejszą aktywację komponenty współczulnej niż syrena w grupie studentów medycyny (LF 53,39 vs. 48,51), natomiast w grupie kontrolnej składającej się ze studentów uczelni niemedycznych dzwonek wywoływał mniej nasiloną reakcję niż syrena (LF 49,11 vs. 60,12). Zaobserwowano także różnice w wartości parametrów równowagi współczulno-przywspółczulnej po usłyszeniu dzwonka oraz syreny w grupie studentów medycyny (SD2/SD1 2,82 vs. 2,54) oraz w grupie kontrolnej (SD2/SD1 1,95 vs. 2,08).

**Wnioski:** Obydwa dźwięki aktywowały komponentę współczulnej układu autonomicznego, przy czym dzwonek, który kojarzył się z egzaminami, wywoływał silniejszą odpowiedź niż syrena w grupie studentów medycyny. W grupie studentów niemedycznych wyniki były przeciwstawne — syrena powodowała silniejszą aktywację komponenty współczulnej niż dzwonek. Przeszłe silne zdarzenia mogą zmieniać reaktywność układu autonomicznego na bodźce stresowe.

## MODULUJĄCY WPŁYW WITAMINY D NA KARDIOTOKSYCZNE DZIAŁANIE 5-FLUOROURACYLU

VITAMIN D MODULATES FLUOROURACIL INDUCED CARDIOTOXICITY

MICHAŁ JURCZYK, PAULINA STACH, KAMIL SKOWRON, KRZYSZTOF GIL

*Katedra Patofizjologii, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, Czysza 18, 33-332 Kraków*

**Cel:** Celem pracy była ocena możliwości zastosowania witaminy D jako substancji potencjalnie chroniącej serce w czasie chemioterapii z zastosowaniem 5-fluorouracylu. Uszkodzenie serca oceniono za pomocą analizy zmienności rytmu zatokowego (HRV) oraz hemodynamicznych parametrów układu krążenia.

**Materiały i metody:** 40 samców szczurów rasy Wistar podzielono na 2 grupy. Grupa eksperymentalna otrzymywała suplementację witaminy D 500 IU/kg p.o. codziennie przez 9 tygodni, natomiast grupa kontrolna otrzymywała identyczną objętość soli fizjologicznej. Po 3 dniach suplementacji zwierzęta otrzymały pierwszą dawkę 5-FU 150 mg/kg i.p.; podanie powtarzano co 2 tygodnie aż do 4 dawek. Wykonano 6 zapisów elektrokardiograficznych: przed podaniem pierwszej dawki 5-FU, każdorazowo po podaniu 5-FU oraz 2 tygodnie po zakończeniu podaży 5-FU.

**Wyniki:** Analiza zmienności rytmu zatokowego wskazywała zmniejszoną aktywność komponenty współczulnej w grupie eksperymentalnej niż w grupie kontrolnej (SDNN 3,69 vs. 4,91; HRV triangular index 1,71 vs. 1,98; LF 6,01 vs. 12,05). W grupie, w której suplementowano witaminę D, odnotowano wyższe wartości aktywności komponenty przywspółczulnego (HF 94 vs. 89; RMSSD 3,90 vs. 3,54). Ponadto suplementacja witaminy D wpływała na obniżenie wartości parametrów równowagi współczulno-przywspółczulnej (LF/HF 0,06 vs. 0,14; SD2/SD1 1,51 vs. 1,81). Również fizjologiczna entropia była silniej zaznaczona w grupie eksperymentalnej niż w grupie kontrolnej (SampEn 1,52 vs. 1,38; ApEn 1,34 vs. 1,29). Witamina D zapobiegała także nadmiernemu spadkowi maksymalnej akcji serca obserwowanemu podczas podaży 5-FU (Max HR 296 vs 276).

**Wnioski:** Uzyskane wyniki wskazują, że suplementacja witaminą D modulując aktywność układu autonomicznego ogranicza niekorzystne zmiany w układzie krążenia, do których dochodzi podczas przewlekłego stosowania 5-fluorouracylu.



MODELOWANIE DYSFUNKCJI ŚRÓDBŁONKA W CUKRZYCY  
TYPU MODY ZA POMOCĄ INDUKOWANYCH  
PLURIPOTENCJALNYCH KOMÓREK MACIERZYSTYCH

MODELING OF ENDOTHELIAL (DYS)FUNCTION IN MATURITY ONSET DIABETES OF  
THE YOUNG USING INDUCED PLURIPOTENT STEM CELLS

NELI KACHAMAKOVA-TROJANOWSKA<sup>1</sup>, JACEK STĘPNIEWSKI<sup>2</sup>, JÓZEF DULAK<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> *Małopolskie Centrum Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński, Gronostajowa 7A, 30-387 Kraków*

<sup>2</sup> *Zakład Biotechnologii Medycznej, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński,  
Gronostajowa 7, 30-387 Kraków*

<sup>3</sup> *Kardio-Med Silesia, Marii Curie-Skłodowskiej 10C, 41-800 Zabrze*

Maturity onset diabetes of the young (MODY) is an autosomal dominant monogenic diabetic disease typically affecting individuals before the age of 25 and closely resembling type 2 diabetes. The most common form of the disease is caused by mutation in hepatocyte nuclear factor 1A (HNF1A) gene. Patients with HNF1A-MODY were associated with abnormalities in endothelial function, microvascular complications like retinopathy, and increased risk factor for cardiovascular diseases. However, up to date there is no clear relation between mutation in HNF1A gene and endothelial dysfunction. As the clinical phenotype of HNF1A-MODY diabetes varies considerably in the patients, we generated isogenic induced pluripotent stem cells (iPSCs) lines using CRISPR/Cas9. Derived lines had confirmed monoallelic or biallelic mutations, leading to frame shift and occurrence of premature stop codon in HNF1A gene, without any effect on the pluripotent state of the cells. Subsequently, control iPSCs and HNF1A clones (sgHNF1A) were differentiated toward endothelial cells (iPS-ECs) and different markers/functions were compared. iPS-ECs from all cell lines showed almost 100% expression of CD31, Tie-2 and VE-cadherin. Functionally, iPS-ECs from all lines had similar angiogenic response in tube-like formation assay. In response to pro-inflammatory cytokine (TNF $\alpha$ ) iPS-EC increased the expression of ICAM-1 independently of HNF1A mutation introduced. Additionally, sgHNF1A ECs, showed higher level of permeabilization in response to TNF $\alpha$ , assessed by FITC-dextran assay. Moreover, iPS-ECs with biallelic mutation in HNF1A had higher IL-8 production in basic conditions and lower in response to pro-inflammatory cytokine as compared to control cells. Summarizing, mutation of HNF1A in iPS-ECs leads to diminished IL-8 production in response to TNF- $\alpha$  together with increased permeability, as compared to the control isogenic cells.

The work was supported by Opus grant from National Science Centre of Poland (2016/23/B/NZ1/01804).

PRZEDKLINICZNA OCENA WYKONALNOŚCI IMPLANTACJI  
ORAZ WCZESNEJ ODPOWIEDZI TKANKOWEJ  
NOWEGO RUSZTOWANIA BIODEGRADOWALNEGO  
Z POLIMERU PLLA/PLGA W MODELU RESTENOZY W STENCIEIMPLANTATION FEASIBILITY AND EARLY VASCULAR RESPONSE OF A NOVEL PLLA/PLGA  
BIORESORBABLE SCAFFOLD IN PORCINE CORONARY IN-STENT RESTENOSIS MODELMATEUSZ KACHEL<sup>1</sup>, MAGDALENA MICHALAK<sup>1</sup>, MARTA KONOPKO<sup>2</sup>, MICHAŁ SOBOTA<sup>3</sup>,  
JERZY MAŁACHOWSKI<sup>4</sup>, PAWEŁ BUSZMAN<sup>5</sup>, KRZYSZTOF MILEWSKI<sup>1</sup>, PIOTR BUSZMAN<sup>1,2</sup><sup>1</sup>Center for Cardiovascular Research and Development, American Heart of Poland, Czajek 41, 40-534 Katowice<sup>2</sup>Faculty of Medicine and Health Sciences, Andrzej Frycz Modrzewski Krakow University,  
Gustawa Herlinga-Grudzińskiego 1, 30-705 Kraków<sup>3</sup>Center for Polymer and Carbon Materials, M. Curie-Skłodowskiej 34, 41-819 Zabrze<sup>4</sup>Military University of Technology, gen. Sylwestra Kaliskiego 2, 01-476 Warszawa<sup>5</sup>Medical University of Silesia, Poniatowskiego 15, 40-055 Katowice

**Background:** First generation bioresorbable scaffolds (BRS) made from poli-L-lactide acid (PLLA) have failed to overcome limitations of current generation metallic drug eluting stents. Therefore, the need for improvement of bioresorbable platforms has intensified. Herein we present preclinical outcome of a novel PLLA and poli-lactic-glycolic-acid (PLLA-PLGA) blend bioresorbable polymer vascular scaffold.

**Methods:** In the first stage rods of PLGA, PLLA and PLLA/PLGA were implanted subcutaneously in 12 rabbits (4 each) for 90 and 180 days to evaluate biodegradation and biocompatibility. Subsequently, total of 9 scaffolds, including 6 tested (PLLA:PLGA) and 3 reference (PLLA) were implanted with 110% overstretch with optical coherence tomography (OCT) guidance in coronary arteries of 4 domestic swine for 30 days. At terminal follow-up, terminal imaging with OCT was performed, animals sacrificed and scaffolds harvested for pathology.

**Results:** In the first part of experiment, in histopathology all rods were seen as anergic and biocompatible with no adverse inflammatory reaction. At 180 days biodegradation was noted in PLLA and PLLA/PLGA samples, but not in PLLA.

In the second part, all scaffolds were implanted successfully into swine coronary arteries. At 28 days in OCT, stent areas were comparable between PLLA/PLGA and PLLA stents ( $4.4 \pm 1$  vs.  $4.4 \pm 0.9$  mm<sup>2</sup>;  $p = ns$ ). Similarly, percent area stenosis (%AS:  $52.4 \pm 8$  vs.  $42.5 \pm 4$ %) was similar. In pathology, there was a tendency toward lower inflammation ( $0.46$  vs.  $1.5$ ;  $p = 0.1$ ) in the PLGA/PLLA. Foreign — body granulomas were absent around the PLGA/PLLA struts, whereas present around the PLLA struts.

**Conclusions:** This preliminary results show that implantation of a new PLGA/PLLA scaffolds was feasible. At 30 days their integrity remained intact and neointimal response comparable to reference PLLA devices, however histopathology showed improved biocompatibility of PLGA/PLLA polymer when compared to PLLA.

## WYBRANE WŁAŚCIWOŚCI PŁYTKOWYCH PĘCZERZYKÓW ZEWNĄTRZKOMÓRKOWYCH JAKO BIOMARKER RYZYKA SERCOWO-NACZYNIOWEGO

SELECTED PROPERTIES OF PLATELET-DERIVED EXTRACELLULAR VESICLES  
AS BIOMARKER OF CARDIOVASCULAR RISK

AGNIESZKA KAMIŃSKA<sup>1</sup>, BARBARA JACHIMSKA<sup>2</sup>, EWA STĘPIEŃ<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zakład Fizyki Medycznej, Wydział Fizyki, Astronomii i Informatyki Stosowanej, Uniwersytet Jagielloński,  
Łojasiewicza 11, 30-348 Kraków

<sup>2</sup> Instytut Katalizy i Fizykochemii Powierzchni im. Jerzego Habera, Polska Akademia Nauk,  
Niezapominajek 8, 30-239 Kraków

Pęcherzyki zewnątrzkomórkowe pochodzące z płytek krwi (ang. platelet-derived extracellular vesicles, PEVs) są najbardziej liczną populacją pęcherzyków krążących we krwi. PEVs są kulistymi strukturami otoczonymi błoną fosfolipidową, zawierającymi różnego rodzaju biomolekuły, tj. białka, lipidy, kwasy nukleinowe, metabolity. PEVs prezentują na swej powierzchni specyficzne białka, będące swego rodzaju „etykietą”, która odgrywa ważną rolę w rozpoznawaniu komórki docelowej. Błona lipidowa PEVs jest bogata w fosfatydyloserynę (PS) eksponowaną na zewnątrz. Wykazano, że PS wpływa na zwiększenie aktywności prokoagulacyjnej płytek krwi. PS stymuluje tworzenie kompleksu protrombinazy i tenazy, będących kluczowymi aktywatorami kaskady krzepnięcia. Ze względu na specyficzne właściwości PEVs: niewielki rozmiar, skład molekularny oraz ładunek elektryczny, PEVs tworzą katalityczną powierzchnię dla czynników krzepnięcia, a także innych białek zaangażowanych w procesy krzepnięcia i fibrylizy. W niniejszych badaniach do wyznaczenia rozkładu wielkości dwóch subpopulacji PEVs: mikropecherzyków (100–1000 nm) i egzosomów (30–100 nm) izolowanych z aktywowanych płytek krwi pochodzących od chorych z cukrzycą oraz osób zdrowych (kontrola) wykorzystano metodę dynamicznego rozpraszania światła (DLS), a także metodę śledzenia trajektorii ruchu nanocząstek (NTA). Uzyskane wyniki potwierdziły dużą heterogeniczność próbek PEVs, zaś ich rozmiary mieściły się w zakresie: 50–600 nm. Dodatkowo wyznaczono wartość potencjału Zeta dla PEVs płytkowych poprzez pomiar ruchliwości elektroforetycznej z wykorzystaniem urządzenia Zetasizer ZEN3600. Uzyskane wartości potencjału Zeta:  $11.2 \pm 0.7$  mV dla mikropecherzyków oraz  $8.6 \pm 0.3$  mV dla egzosomów wskazują na ich tendencję do agregacji w roztworze. Zmiany stężenia, jak i zmiany właściwości powierzchni PEVs mogą odgrywać kluczową rolę w regulacji procesu krzepnięcia, a tym samym stanowić wskaźnik zmian zachodzących w układzie sercowo-naczyniowym.

Praca finansowana przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju, nr grantu LIDER/9/0031/L-9/17/NCBR/2018.

## ZMIANY W STATUSIE ŻELAZA W WĄTROBIE I SERCU W MODELU PRZEWLEKŁEJ NIETYDOLNOŚCI SERCA INDUKOWANEJ TACHYKARDIĄ U ŚWIŃ

CHANGES IN HEPATIC AND MYOCARDIAL IRON STATUS IN CHRONIC HEART FAILURE  
MODEL OF TACHYCARDIA-INDUCED CARDIOMYOPATHY IN PIGS

MONIKA KASZTURA<sup>1</sup>, URSZULA PASŁAWSKA<sup>2</sup>, ALICJA TOMASZEK<sup>3</sup>, ALEKSANDRA TABIŚ<sup>1</sup>,  
JACEK BANIA<sup>4</sup>, MACIEJ ZACHARSKI<sup>2</sup>, ROBERT PASŁAWSKI<sup>2</sup>, ADRIAN JANISZEWSKI<sup>2</sup>,  
PIOTR KUROPKA<sup>5</sup>, AGNIESZKA NOSZCZYK-NOWAK<sup>2</sup>, PIOTR DZIĘGIEL<sup>6</sup>,  
LILIANA KICZAK<sup>7</sup>, PIOTR PONIKOWSKI<sup>8</sup>

<sup>1</sup> Katedra Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Konsumenta, Wydział Medycyny Weterynaryjnej,  
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Norwida 31, 50-375 Wrocław

<sup>2</sup> Wojewódzki Szpital Specjalistyczny, Ośrodek Badawczo-Rozwojowy, Kamińskiego 73a, 51-124 Wrocław

<sup>3</sup> III Katedra Patologii, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu,  
Norwida 31, 50-375 Wrocław

<sup>4</sup> Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Norwida 31, 50-375 Wrocław

<sup>5</sup> Katedra Biostruktury i Fizjologii Zwierząt, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy  
we Wrocławiu, Norwida 25, 50-375 Wrocław

<sup>6</sup> Zakład Histologii i Embriologii, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Chałubińskiego 6a, 50-368 Wrocław

<sup>7</sup> Katedra Biochemii i Biologii Molekularnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu,  
Norwida 31, 50-375 Wrocław

<sup>8</sup> Katedra i Klinika Chorób Serca, Wydział Nauk o Zdrowiu, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu,  
Borowska 213, 50-556 Wrocław

**Wstęp:** Wiedza o zmianach w statusie Fe podczas rozwoju niewydolności serca (NS) wciąż pozostaje niepełna. Jako że wątroba jest głównym organem odpowiedzialnym za metabolizm żelaza, w stworzonym przez nasz zespół świńskim modelu NS indukowanej tachykardią zbadano jej zdolność do magazynowania żelaza (poziom ferrytyny, głównego białka odpowiedzialnego za magazynowanie żelaza, oraz Fe<sup>3</sup> związanego z ferrytyną). Równoległe te same analizy wykonano dla serca.

**Metody:** Świnie rasy wielka biała polska (samce,  $n=25$ ) poddano stałej stymulacji prawej komory przy narzuceniu rytmu 170/min, osobniki z wyłączonymi stymulatorami stanowiły kontrolę ( $n=6$ ). Świnie oceniano co 4 tygodnie. W wyniku stymulacji prawokomorowej u zwierząt rozwijała się NS, poszczególne osobniki poddawano eutanazji w kolejnych etapach rozwoju NS: łagodna ( $n=9$ ), umiarkowana ( $n=9$ ), zaawansowana ( $n=7$ ). W homogenatach z wątroby i serca badano rozpuszczalną formę ferrytyny (łańcuch lekki i ciężki) i związane z nią Fe<sup>3+</sup>. Oceniano również histologicznie skrawki wątroby i serca (barwienie H&E oraz błękitem pruskim).

**Wyniki:** W eksperymentalnym modelu indukowanej tachykardią kardiomiopatii postęp NS był powiązany z zastojem krwi w wątrobie, u świń z zaawansowaną NS był on masywny, wraz

z dużymi obszarami hemosyderozy. Progresji NS towarzyszył spadek ilości żelaza  $Fe^{3+}$  w hepatocytach ( $p < 0.05$ ). Podobny wynik uzyskano barwiąc rozpuszczalną ferrytynę na obecność żelaza  $Fe^{3+}$  ( $p < 0.05$ ). Wraz z rozwojem NS spadała ilość rozpuszczalnej formy ferrytyny ( $p < 0.01$ ). W sercu wykazano zmiany typowe dla NS, bez oznak przeładowania Fe. Jednocześnie stwierdzono wzrost rozpuszczalnej formy ferrytyny z równoległym spadkiem ilości związanego nią  $Fe^{3+}$ .

**Dyskusja:** Progresji przewlekłej NS towarzyszy spadek ilości żelaza  $Fe^{3+}$  w wątrobie, co w powiązaniu z obniżoną ilością rozpuszczalnej formy ferrytyny może świadczyć o braku zdolności do magazynowania żelaza, połączonym z wyczerpaniem zapasów tego pierwiastka w wątrobie. Jednocześnie w sercu istnieje rezerwa ferrytyny zdolnej do związania Fe.

ZAHAMOWANIE AKTYWNOŚCI TROMBINY POPRAWIA  
FUNKCJĘ ŚRÓDBŁONKA NACZYNIOWEGO W MYSIM MODELU  
NADCIŚNIENIA TĘTNICZEGO KRWI WYWOŁANEGO PODAWANIEM  
ANGIOTENSYNY II

THE INHIBITION OF THROMBIN ACTIVITY IMPROVES THE FUNCTION  
OF VASCULAR ENDOTHELIUM IN ANGIOTENSIN II-INDUCED  
HYPERTENSION IN MICE

AGNIESZKA KIJ<sup>1</sup>, ANNA BAR<sup>1</sup>, BARTOSZ PRONIEWSKI<sup>1</sup>, ŁUKASZ MATEUSZUK<sup>1</sup>,  
BRYGIDA MARCZYK<sup>1</sup>, ANNA TWORZYDŁO<sup>1</sup>, CAMILLA ENNGAARD<sup>2</sup>,  
PERNILLE LAERKEGAARD HANSEN<sup>2</sup>, BOYE JENSEN<sup>2</sup>,  
MARIA WALCZAK<sup>1,3</sup>, STEFAN CHŁOPICKI<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> Jagiellonian Centre for Experimental Therapeutics (JCET), Jagiellonian University,  
Borzyńskiego 14, 30-348 Kraków

<sup>2</sup> Department of Cardiovascular and Renal Research, University of Southern Denmark,  
J.B. Winsløvs Vej 21, 5000 Odense (Denmark)

<sup>3</sup> Chair and Department of Toxicology, Jagiellonian University Medical College,  
Medyczna 9, 30-688 Kraków

<sup>4</sup> Chair of Pharmacology, Jagiellonian University Medical College,  
Grzegorzewska 16, 31-531 Kraków

**Aim:** The excessive biosynthesis of the main effector of renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) such as angiotensin II (Ang II) leads to the damage of vascular endothelium and development of hypertension. The activation of RAAS also alters the balance between epoxyeicosatrienoic acids (EET) considered as EDHF and 20-hydroxyeicosatetraenoic acid (20-HETE) acting as a potent vasoconstrictor. As the endothelium dysfunction is related with increased platelet activity, the thrombin inhibition could be an effective therapeutic approach, not only to inhibit platelets activity and coagulation, but also to improve endothelial function under pathological conditions. Therefore, the presented study was aimed to assess the effect of dabigatran on the endothelium function and EET/20-HETE balance in murine model of hypertension induced by Ang II administration.

**Results:** Ang II-induced hypertension was associated with the development of endothelial dysfunction as evidenced by a decrease in NO metabolites concentration in plasma as well as reduced NO production in aorta. Moreover, the Ang II-induced endothelial dysfunction was also reflected by impaired relaxation of thoracic and abdominal aorta in response to acetylcholine in vivo as measured by MRI. Ang II-induced endothelial dysfunction was associated with a decrease in EET/20-HETE ratio in plasma. The administration of dabigatran to Ang II-treated animals did not significantly influence the blood pressure, however it increased the bioavailability of NO and

EET/20-HETE balance. Interestingly, dabigatran also reduced the amount of vWF, I-CAM and V-CAM in aorta.

**Conclusions:** Ang II-induced hypertension is associated with the development of endothelial dysfunction and excessive biosynthesis of 20-HETE, whereas the inhibition of thrombin activity improves the function of vascular endothelium without affecting the blood pressure. Ang II-induced endothelial dysfunction, but not hypertension is mediated by thrombin activity in mice.

This work was supported by the project METENDOPHA (a grant coordinated by JCET-UJ, No. STRATEGMED1/233226/11/NCBR/2015).

WPŁYW GLUKOZY NA METABOLIZM ENERGETYCZNY LUDZKICH  
KOMÓREK INTERSTYCJALNYCH ZASTAWKI AORTALNEJ (VICs)EFFECT OF GLUCOSE ON THE ENERGY METABOLISM  
OF VALVE INTERSTITIAL CELLS (VICs)MAGDALENA KOPYTEK<sup>1</sup>, ALICJA BULIŃSKA<sup>2</sup>, ANETTA UNDAŚ<sup>1,3</sup>,  
RYSZARD SMOLEŃSKI<sup>2,4</sup>, JOANNA NATORSKA<sup>1,3</sup><sup>1</sup> *Krakowski Szpital Specjalistyczny im. Jana Pawła II, Prądnicka 80, 31-202 Kraków*<sup>2</sup> *Katedra Biochemii Klinicznej, Gdański Uniwersytet Medyczny, Dębinki 7, 80-211 Gdańsk*<sup>3</sup> *Zakład Kardiologii, Anestezjologii i Kardiologii Doświadczalnej, Collegium Medicum,  
Uniwersytet Jagielloński, Prądnicka 80, 31-202 Kraków*<sup>4</sup> *Katedra i Zakład Biochemii Farmaceutycznej, Gdański Uniwersytet Medyczny,  
Marii Skłodowskiej-Curie 3A, 80-210 Gdańsk*

Nukleotydy pozakomórkowe mogą brać udział w rozwoju stenozы aortalnej (AS) a na ich uwalnianie wpływają np. hiperglikemia, przedłużający się stan zapalny. Celem badania było sprawdzenie, czy komórki izolowane ze stenotycznych zastawek aortalnych (VICs) stymulowane glukozą wykazują zaburzenia energetyki komórki, mierzonej jako poziom stężenia nukleotydów ATP i NAD<sup>+</sup> i nukleozydu inozyny, produktu katabolizmu ATP.

VICs izolowano z płatków zastawek pobranych od pacjentów z AS skierowanych do chirurgicznej wymiany zastawki i hodowano w pożywce z glukozą w stężeniu 1,0 lub 2,5 g/l przez 24 i 72 godziny. VICs hodowane w standardowej pożywce przez 24–72 h stanowiły kontrolę negatywną. Stężenie ATP i NAD<sup>+</sup> oceniono za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej w układzie odwróconych faz (RP-HPLC). Wykonano ekstrakcję komórek za pomocą 0,4 M HClO<sub>4</sub>, następnie ekstrakty zneutralizowano 3M K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, a stężenie nukleotydów oznaczono za pomocą RP-HPLC. Ekspresję interleukiny-6 (IL-6) w VICs badano immunofluorescencyjnie.

W komórkach VICs inkubowanych z glukozą w stężeniu 1 g/l jak i 2,5 g/l przez 24 h nie zaobserwowano zmian w stężeniach ATP, NAD<sup>+</sup> i inozyny ( $p > 0,05$ ). Po 72 h inkubacji VICs z glukozą w stężeniu 2,5 g/l zaobserwowano wzrost stężenia inozyny w porównaniu do kontroli ( $30,9 \pm 14,4$  nM/mg vs.  $4,2 \pm 1,9$  nM/mg,  $p = 0,03$ ). Podobnej zależności nie zaobserwowano dla VICs hodowanych z glukozą w stężeniu 1 g/l. Ponadto po 72 h stymulacji VICs z glukozą 2,5 g/l zaobserwowano spadek stężenia NAD<sup>+</sup> o 19,5% w porównaniu z komórkami kontrolnymi ( $p = 0,016$ ). Obserwowano także trend do spadku stężenia ATP ( $p = 0,057$ ). Stymulacja VICs glukozą o stężeniu 2,5 g/l, ale nie 1 g/l spowodowała wzrost odsetka komórek wykazujących ekspresję IL-6 ( $9,5\% \pm 5,1\%$  vs.  $71\% \pm 14,7\%$ ,  $p = 0,0003$ ).

Hiperglikemia utrzymująca się przynajmniej przez 72 godziny prowadzi do zaburzeń energetycznych w komórkach VICs i ich aktywacji zapalnej.

Praca finansowana przez Narodowe Centrum Nauki, nr grantu 2015/19/B/NZ5/00647.



## WPŁYW DIETY WYSOKOCHOLESTEROLEWEJ NA EKSPRESJĘ BIOMARKERÓW PRZEBUDOWY MIĘŚNIA SERCOWEGO W MYSIM MODELU ApoE

THE EFFECT OF HIGH CHOLESTEROL DIET ON THE EXPRESSION OF BIOMARKERS  
OF MYOCARDIAL REMODELING IN THE MOUSE ApoE MODEL

MICHAŁ KOWARA<sup>1,2</sup>, MICHAŁ JĘDRZEJEWSKI<sup>3</sup>, KATARZYNA CZARZASTA<sup>1</sup>,  
AGNIESZKA SEGIEŃ<sup>1</sup>, ŁUKASZ KOPERSKI<sup>4</sup>, AGNIESZKA CUDNOCH-JĘDRZEJEWSKA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Katedra i Zakład Fizjologii Doświadczalnej i Klinicznej, Centrum Badań Przedklinicznych,  
Warszawski Uniwersytet Medyczny, Banacha 1b, 02-097 Warszawa*

<sup>2</sup> *I Katedra i Klinika Kardiologii, Uniwersyteckie Centrum Kliniczne,  
Warszawski Uniwersytet Medyczny, Banacha 1a, 02-097 Warszawa*

<sup>3</sup> *Oddział Anestezjologii i Intensywnej Terapii, Instytut Gruźlicy i Chorób Płuc,  
Płocka 26, 01-138 Warszawa*

<sup>4</sup> *Katedra i Zakład Patomorfologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny,  
Pawińskiego 7, 02-106 Warszawa*

Celem projektu było zbadanie, czy dieta z wysoką zawartością cholesterolu, która przyspiesza proces powstawania blaszek miażdżycowych, przyczynia się również do zmian ekspresji białek regulujących macierz zewnątrzkomórkową w mięśniu sercowym.

Badania przeprowadzono na 20 myszach ApoE (-/-) (Charles Rivers Laboratories, Inc.), które od 10. tygodnia życia przez kolejne 14 tygodni były żywione dietą standardową (5% tłuszczów, 19,5% kazeiny, Animalab) ( $n=10$  — grupa kontrolna) lub dietą wysokocholesterolową (21% tłuszczów, 0,15% cholesterolu, 19,5% kazeiny; Animalab) ( $n=10$  — grupa badana). Na koniec doświadczenia od myszy pobrano serca do badań biochemicznych. W mięśniu sercowym oznaczono poziom metaloproteinaz: 2 (MMP-2), 9 (MMP-9) oraz czynników prozapalnych — interleukiny 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), 6 (IL-6), kolagenu typu I i typu III oraz tkankowego inhibitora metaloproteinaz macierzy typu 1 (TIMP-1).

Myszy ApoE w grupie badanej charakteryzowały się istotnie wyższą masą ciała w porównaniu do myszy ApoE w grupie kontrolnej. W mięśniu sercowym myszy ApoE w grupie badanej wykazano istotnie wyższy poziom MMP-9, kolagenu typu I i typu II w porównaniu do myszy kontrolnych. Natomiast ekspresja TIMP-1 i IL-6 była istotnie wyższa w grupie kontrolnej w porównaniu do grupy badanej.

Dieta wysokocholesterolowa wpłynęła istotnie na proces włóknienia mięśnia sercowego u myszy ApoE.

Praca finansowana z Grantu Młodego Badacza Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego nr IMA/PM1/17/17.

WPŁYW EKSTRAKTU Z KŁĄCZA POTENTILLA ERECTA  
NA UKŁAD HEMOSTAZY U MYSZY Z CUKRZYCĄ TYPU ITHE EFFECT OF POTENTILLA ERECTA EXTRACT  
ON HEMOSTASIS IN TYPE I DIABETES IN MICENATALIA MARCINCYK<sup>1</sup>, ANNA GROMOTOWICZ-POPŁAWSKA<sup>1</sup>,  
MICHAŁ ALEKSIEJCZUK<sup>1</sup>, MICHAŁ TOMCZYK<sup>2</sup>, EWA CHABIELSKA<sup>1</sup><sup>1</sup> Zakład Biofarmacji, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, Mickiewicza 2C, 15-222 Białystok<sup>2</sup> Zakład Farmakognozji, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, Mickiewicza 2A, 15-222 Białystok

Wykazaliśmy wcześniej przeciwzakrzepowy efekt bogatego w elagotaniny, wodnometanolowego ekstraktu z kłącza *Potentilla erecta* (PER) u zdrowych myszy [1]. Celem pracy była ocena działania PER w warunkach hiperglikemii.

Badania wykonano na myszach C57BL6/J (20–23g,  $n = 84$ ) z 4-tygodniową cukrzycą indukowaną streptozotocyną (200 mg/kg, i.p.). Przez dwa ostatnie tygodnie PER podawano p.o. w 5% zawieszynie gumy arabskiej (VEH) w dawkach: 100, 200 i 400 mg/kg. Zakrzepicę indukowano laserem. W żyłę krezkowej określono: powierzchnię zakrzepu (PZ), aktywność płytek krwi w zakrzepie (stosunek powierzchni płytkowo-śródbłonkowej cząsteczki adhezji komórkowej [PECAM-1] do powierzchni zakrzepu: indeks PECAM-1/zakrzep) oraz intensywność fluorescencji P-selektyny. W tętnicy krezkowej określono intensywność fluorescencji czynnika tkankowego (TF). Zakrzep został zwizualizowany fluorescencyjnym barwnikiem DiOC(6), zaś PECAM-1, P-selektynę i TF zwizualizowano przeciwciałami skoniugowanymi z fluorescencyjnymi barwnikami Alexa.

Efekt przeciwzakrzepowy wyrażony jako spadek PZ, spadek aktywności płytek krwi (wzrost indeksu PECAM-1/zakrzep), zmniejszenie intensywności fluorescencji P-selektyny i TF był widoczny tylko dla PER-100 mg/kg. PER-200 i 400 mg/kg wykazał różnicowany efekt przeciwzakrzepowy. PER-200 mg/kg nie zmienił PZ, choć zwiększył indeks PECAM-1/zakrzep i zmniejszył intensywność fluorescencji TF. PER-400 mg/kg również nie zmienił PZ, choć zmniejszył intensywność fluorescencji P-selektyny i TF.

PER wykazuje korzystny wpływ na układ hemostazy u myszy z cukrzycą, wyrażony zmniejszoną aktywnością płytek krwi i ograniczoną ekspresją TF w ścianie naczynia. W przypadku PER-100 mg/kg zmiany te prowadziły ponadto do zmniejszonej powierzchni zakrzepu. Wpływ wyższych dawek PER na hemostazę, bez widocznych zmian w powierzchni zakrzepu wymaga dalszych badań.

[1] *Marcinczyk et al. Front Pharm, 2017.*

Praca finansowana przez Narodowe Centrum Nauki, nr grantu: 2017/27/N/NZ7/02335.

## ROLA miR-378a W PROCESIE DOJRZEWANIA KARDIOMIOCYTÓW OTRZYMANYCH PRZEZ RÓŻNICOWANIE INDUKOWANYCH PLURIPOTENCJALNYCH KOMÓREK MACIERZYSTYCH

THE ROLE OF miR-378a IN MATURATION OF HUMAN INDUCED  
PLURIPOTENT STEM CELLS-DERIVED CARDIOMYOCYTES

ALICJA MARTYNIAK<sup>1</sup>, SOLÈNE COSTE<sup>1</sup>, BENJAMIN MOTAIS<sup>1</sup>,  
JACEK STĘPNIEWSKI<sup>1</sup>, JÓZEF DULAK<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> *Department of Medical Biotechnology, Faculty of Biochemistry, Biophysics and Biotechnology,  
Jagiellonian University, Gronostajowa 7, 30-387 Kraków*

<sup>2</sup> *Kardio-Med Silesia, Marii Curie-Skłodowskiej 10C, 41-800 Zabrze*

Cardiomyocytes derived from human induced pluripotent cells (hiPSC-CM) serve as a potent tool for drug screening and disease modelling however their immature phenotype limits this potential. During cardiogenesis, acquisition of adult characteristics of human cardiomyocytes may be induced by higher fatty acids availability after birth. Nevertheless, pathways which drives metabolic-driven maturation have not been addressed enough.

miR-378a is one of the most highly expressed microRNAs in the heart. Its expression increases with life time and in long term hiPSC-CM culture. It is involved in hypertrophic growth via regulation of IGF1R and MAPK kinases pathways and in regulation of metabolism. Despite all of those functions, role of miR-378a in the heart has not been well investigated so far.

hiPSC miR-378aKO were generated by CRISPR/Cas9-mediated knockout of miR-378a locus from 1st intron of PPARGC1b. Modified cells differentiated into cardiomyocytes (hiPSC-CM) with high (>85%) efficiency, similarly to control hiPSC. Culture in medium containing 100  $\mu$ M palmitic acid (FAM) increased miR-378a expression in hiPSC-CM. We also observed that hypertrophic growth is promoted in miR-378a-deficient cardiomyocytes in media containing either glucose or FAM as an energy source. Titin N2B/Titin N2BA ratio is decreased in hiPSC-CM miR-378aKO in glucose containing medium (GLCM) and FAM. The mitochondrial content and mitochondrial membrane activity are decreased in hiPSC-CM FAM in comparison to control.

These data show that hiPSC-CM miR-378a are less mature than control ones, which suggests that miR-378a connects cardiac metabolism and hypertrophic growth during maturation process.

## DYSFUNKCJA ŚRÓDBŁONKA U MYSZY CD73<sup>-/-</sup> JEST ZWIĄZANA Z ZABURZENIAMI METABOLIZMU L-ARGININY

ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN CD73-DEFICIENT MICE  
IS LINKED WITH IMPAIRED L-ARGININE METABOLISM

PAULINA MIERZEJEWSKA<sup>1</sup>, MAGDALENA ZABIELSKA<sup>2</sup>, BARBARA KUTRYB-ZAJĄC<sup>2</sup>,  
MARTA TOMCZYK<sup>1</sup>, PATRYCJA KOSZAŁKA<sup>3</sup>, RYSZARD SMOLEŃSKI<sup>1</sup>, EWA SŁOMIŃSKA<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Katedra i Zakład Biochemii, Gdański Uniwersytet Medyczny, Dębinki 1, 80-211 Gdańsk

<sup>2</sup> Katedra i Zakład Biochemii Farmaceutycznej, Gdański Uniwersytet Medyczny,  
Marii Skłodowskiej-Curie 3A, 80-210 Gdańsk

<sup>3</sup> Department of Medical Biotechnology, Intercollegiate Faculty of Biotechnology UG-MUG, Medical University  
of Gdańsk, Dębinki 1, 80-211 Gdańsk, Poland

**Rationale:** Changes in the ecto-5'-nucleotidase activity — an extracellular nucleotide catabolic enzyme may lead to the inflammation and endothelial dysfunction.

**Objective:** We investigated the effect of CD73 deletion on the endothelial function and L-arginine metabolism in various age groups of mice.

**Methods:** 1-, 3-, 6- and 12-month old, male Wild Type (WT) and CD73<sup>-/-</sup> mice were used. Serum levels of the amino acids, Interleukin 6 (IL-6), Intercellular Adhesion Molecule 1 (ICAM-1) and Vascular Cell Adhesion Molecule 1 (VCAM-1) were measured. Serum and aortic nitrate/nitrite, as well as aortic arginase and NOS activity in endothelial cells (EC) were also evaluated. Blood samples were used for the analysis of adenine nucleotide concentrations. Results are presented as mean ± SEM.

**Results:** CD73 deletion led to increase in IL-6, ICAM-1 and VCAM-1 concentration compared to WT. All CD73<sup>-/-</sup> mice age groups were characterized by reduced L-Arginine level. Significantly lower NOS activity was noticed in EC isolated from CD73<sup>-/-</sup> mice lungs (266.0 ± 85.7 RFU/mg of protein) in comparison to WT (534.8 ± 77.8 RFU/mg of protein). The L-Arginine/ADMA ratio in the CD73<sup>-/-</sup> decreased in age-dependent manner in comparison to WT. The nitrate/nitrite ratio was reduced in serum (33.9 ± 8.0 vs. 11.5 ± 2.4) and in aortas (1.18 ± 0.05 vs. 0.93 ± 0.04) of 6-month-old CD73<sup>-/-</sup> mice as compared to WT. Blood (erythrocyte)

Adenosine-5'-triphosphate (ATP) and Adenosine-5'-diphosphate (ADP) levels were reduced in favor to higher blood

Adenosine-5'-monophosphate (AMP) concentration in CD73<sup>-/-</sup> mice in comparison to WT.

**Conclusions:** The CD73 deletion leads to the development of age-dependent endothelial dysfunction in mice, associated with impaired L-arginine metabolism. CD73 activity seems to protect endothelium.

This study was supported by National Science Centre of Poland (2015/19/N/NZ1/03435) and the Polish Ministry of Science and Higher Education (01-0342/08/256).

METFORMINA POPRAWIA METABOLIZM, FUNKCJE  
 I ZAPOBIEGA ZMIANOM STRUKTURALNYM  
 W SERCACH SZCZURÓW SHR

METFORMIN IMPROVES METABOLIC, FUNCTIONAL, AND STRUCTURAL ABNORMALITIES  
 IN SHR HEARTS

KRZYSZTOF MIŃCZUK<sup>1</sup>, JIE LI<sup>2</sup>, JAMES MASSEY<sup>2</sup>, JACK ROY<sup>2</sup>, PAUL SPUMEN<sup>3</sup>,  
 JAMES PATRIE<sup>4</sup>, ROBERT CAREY<sup>5</sup>, HEINRICH TAEGTMEYER<sup>6</sup>, SUSANNA KELLER<sup>7</sup>,  
 BIJOY KUNDU<sup>2</sup>, BARBARA MALINOWSKA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zakład Fizjologii i Patofizjologii Doświadczalnej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku,  
 Mickiewicza 2A, 15-222 Białystok

<sup>2</sup> Department of Radiology and Medical Imaging, University of Virginia, 480 Ray C. Hunt Drive,  
 Charlottesville (USA)

<sup>3</sup> Molecular Imaging Core, University of Virginia, 480 Ray C. Hunt Drive, Charlottesville (USA)

<sup>4</sup> Department of Public Health Sciences, University of Virginia, Cobb Hall, Charlottesville (USA)

<sup>5</sup> Division of Endocrinology and Metabolism, Department of Medicine, University of Virginia,  
 450 Ray C. Hunt Drive, Charlottesville (USA)

<sup>6</sup> McGovern Medical School University of Texas Health Science Center in Houston, 7000 Fannin St,  
 Houston (USA)

<sup>7</sup> Division of Endocrinology and Metabolism Department of Medicine University of Virginia,  
 450 Ray C. Hunt Drive, Charlottesville (USA)

**Wprowadzenie:** U szczurów ze spontanicznym nadciśnieniem (SHR) zaobserwowaliśmy głębokie zmiany metaboliczne w mięśniu sercowym, występujące przed lub jednocześnie z zaburzeniami czynności serca i przed przerostem lewej komory (LVH).

**Hipoteza:** Wczesne wyrównanie zmian metabolicznych za pomocą metforminy zapobiega zaburzeniom kurczliwości i przebudowie struktury serc SHR in vivo.

**Metody:** Szczurom SHR i WKY (normotensyjna kontrola) podawano metforminę (300 mg/kg/dzień w wodzie pitnej) od 2. miesiąca życia, czyli gdy obserwowane są po raz pierwszy istotne zmiany metaboliczne w sercach SHR. Wpływ metforminy na metabolizm, funkcję i strukturę serca oceniono za pomocą PET i MRI. PET pozwoliło na ocenę wychwyty glukozy w mięśniu sercowym (Ki), natomiast MRI na ocenę frakcji wyrzutowej (EF), masy lewej komory (LVM) i późnorozkurczowej grubości ściany lewej komory (EDWT). Średnie ciśnienie tętnicze (MAP) zmierzono metodą krwawą z tętnicy szyjnej. Zmierzono także wolne kwasy tłuszczowe (FFA) w surowicy i oceniono aktywność kompleksu mTOR w mięśniu sercowym. Pomiary wykonano u szczurów w wieku 2 i 5 miesięcy (przed i po 3-miesięcznym podawaniu metforminy).

**Wyniki:** W porównaniu do SHR otrzymujących czystą wodę pitną chroniczne podawanie metforminy: obniżało MAP ( $p=0,022$ ), Ki ( $p=0,017$ ), LVM/TL ( $p=0,021$ ), EDTW ( $p=0,002$ ),

a poprawiło EF ( $p=0,009$ ). Istotnie niższe były również poziomy FFA w surowicy ( $p=0,047$ ) i aktywność mTOR w mięśniu sercowym ( $p=0,028$ ).

**Wnioski:** Wczesne leczenie metforminą obniża ciśnienie krwi, osłabia wychwyt glukozy w mięśniu sercowym i poprawia czynność serca u szczurów SHR. Metformina zmniejsza także aktywność mTOR mięśnia sercowego i zapobiega LVH w sercach SHR. Metformina może zatem służyć jako nowy środek farmakologiczny do zapobiegania lub łagodzenia LVH wywołanego przewlekłym nadciśnieniem.

Praca finansowana przez Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, nr grantu SUB/2/DN/19/002/2213.

## ROZWÓJ OBWODOWEJ FUNKCJI ŚRÓDBŁONKA W MYSIM MODELU NIEWYDOLNOŚCI MIĘŚNIA SERCOWEGO (Tgaq\*44)

DEVELOPMENT OF PERIPHERAL ENDOTHELIAL FUNCTION  
IN MURINE MODEL OF HEART FAILURE (Tgaq\*44)

TASNIM MOHAISSEN<sup>1</sup>, BARTOSZ PRONIEWSKI<sup>1</sup>, AGNIESZKA KIJ<sup>1</sup>,  
ANNA BAR<sup>1</sup>, MAGDALENA STERNAK<sup>1</sup>, BRYGIDA MARCZYK<sup>1</sup>,  
RAQUEL RODRIGUES DÍEZ<sup>2</sup>, ANA BRIONES<sup>2</sup>, STEFAN CHŁOPICKI<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> *Jagiellonian Centre for Experimental Therapeutics (JCET), Jagiellonian University,  
Borzyńskiego 14, 30-348 Kraków*

<sup>2</sup> *Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Madrid,  
Instituto de Investigación Hospital La Paz, Madrid (Spain)*

<sup>3</sup> *Chair of Pharmacology, Jagiellonian University Medical College, Grzegórzecka 16, 31-531 Kraków*

Endothelial dysfunction could have prognostic value in heart failure. However, the mechanism of heart failure-dependent endothelial dysfunction and progression of HF are yet not established. The aim of the study was to analyse the endothelial function in the main systemic artery along the progression of HF in a murine model (Tgaq\*44) and their littermates (FVB) control mice. We used Tgaq\*44 mice with normal and progressively decreased ejection fraction as compared to age-matched FVB mice. Artery function has been studied in the isolated aorta by the wire myograph technique. As for assessing endothelial function in aorta in vivo we used magnetic resonance imaging. The production of NO and superoxide in the aorta were measured by Electron Paramagnetic Resonance Spectroscopy and High-Performance Liquid chromatography, respectively. To assess eicosanoid concentrations, we used UPLC-MS/MS-based method. To analyze genes and protein expression we used Quantitative Real-Time PCR and Western blot technics. Ex vivo studies show that, in the aorta from 10- and 12-month Tgaq\*44 mice were significantly less responsive to acetylcholine-induced endothelium-dependent relaxation. However, in vivo studies show significantly lower response to acetylcholine from 8-month Tgaq\*44 mice. We observed a statistically significant decrease of NO production in 10-month old Tgaq\*44 mice and increase of superoxide production in 12-month old Tgaq 44. Western blot analysis showed that eNOS protein were gradually decreased with age and COX-2 protein was significantly increased at 12-month old Tgaq\*44 mice. The pro-inflammatory genes seemed to be decreased from 4-month old Tgaq\*44 mice. In summary, impairment of artery endothelial function was demonstrated in the early phase of HF. End stages of heart failure is associated with changes of eicosanoids level which are probably depended on upregulation of COX-2 protein.

This work was supported by National Science Centre of Poland — SYMFONIA 3 grant No. DEC-2015/16/W/NZ4/00070, PRELUDIUM 15 grant No. UMO 2018/29/N/NZ24/02915.

NOWA TECHNOLOGIA J-PET —  
PERSPEKTYWY OBRAZOWANIA DYNAMIKI  
METABOLIZMU I PATOLOGII TKANEK

NOVEL J-PET TECHNOLOGY — PERSPECTIVES FOR DYNAMICAL  
IMAGING OF METABOLISM AND TISSUE PATHOLOGY

PAWEŁ MOSKAŁ

*Zakład Fizyki Doświadczalnej Cząstek i Ich Zastosowań, Instytut Fizyki im. Mariana Smoluchowskiego,  
Wydział Fizyki, Astronomii i Informatyki Stosowanej, Uniwersytet Jagielloński,  
Łojasiewicza 11, 30-348 Kraków*

W Instytucie Fizyki Uniwersytetu Jagiellońskiego został zaprojektowany i zbudowany pierwszy tomograf PET, który działa w oparciu o scyntylatory plastikowe. Jagielloński PET (J-PET) jest unikalnym w skali świata urządzeniem badawczym pozwalającym nie tylko na obrazowanie metabolizmu wybranych substancji w organizmach żywych, ale także na obrazowanie patologii tkanek in vivo. Obrazowanie patologii tkanek jest unikalną cechą tomografu J-PET opartą o fakt, że w trakcie diagnozowania PET w tkankach człowieka w przestrzeniach intramolekularnych powstają atomy pozytonium (atomy złożone z elektronu z tkanki oraz pozytonu emitowanego przez znacznik izotopowy). Zjawisko to, niewykorzystywane dotąd w medycynie, może stworzyć nowe możliwości dla diagnostyki medycznej. Na przykład, średni czas życia pozytonium wewnątrz tkanek zależy od wielkości wolnych przestrzeni między atomami oraz od koncentracji wolnych rodników w komórkach i może posłużyć jako nowy wskaźnik do wyznaczania stopnia złośliwości nowotworów.

Technologia J-PET umożliwiła zbudowanie tomografu PET na całe ciało człowieka. Dostęp do takiego urządzenia otworzyłby nowe możliwości badań w medycynie, w tym np. (i) badań farmakokinetyki nowych związków czy wiązania leków na poziomie tkankowym w układzie in vivo; (ii) wykrywania stopnia złośliwości nowotworów in vivo; (iii) badania nad chorobami metabolicznymi i chorobami przewlekłymi na poziomie komórkowym i tkankowym.

Na wykładzie omówiona zostanie zasada działania tomografu J-PET, perspektywy budowy takiego tomografu w Polsce, nowe perspektywy badań w onkologii i kardiologii, które otworzą się dzięki możliwości badania dynamiki metabolizmu i patologii tkanek w całym ciele człowieka jednocześnie.

Moskał P, Jasińska B, Stępień E, Bass S, Nature Reviews Physics. 2019; 1: 527.

Moskał P, et al., Physics in Medicine and Biology. 2019; 64: 055017.



ZABURZENIA ANGIOGENEZY W DYSTROFII MIĘŚNIOWEJ  
DUCHENNE'A — BADANIA W MYSIM MODELU  
I Z WYKORZYSTANIEM LUDZKICH INDUKOWANYCH  
PLURIPOTENCJALNYCH KOMÓREK MACIERZYSTYCH  
RÓŻNICOWANYCH DO KOMÓREK ŚRÓDBŁONKA

DYSREGULATION OF ANGIOGENESIS IN DUCHENNE MUSCULAR DYSTROPHY —  
STUDIES IN MDX MICE AND HUMAN INDUCED PLURIPOTENT STEM CELLS  
DIFFERENTIATED TO ENDOTHELIAL CELLS

OLGA MUCHA<sup>1</sup>, PAULINA PODKALICKA<sup>1</sup>, KATARZYNA KAZIRÓD<sup>1</sup>, KINGA RUSIN<sup>1</sup>,  
NELI KACHAMAKOVA-TROJANOWSKA<sup>2</sup>, KALINA ANDRYSIAK<sup>1</sup>, JACEK STĘPNIEWSKI<sup>1</sup>,  
JÓZEF DULAK<sup>1,3</sup>, AGNIESZKA ŁOBODA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Department of Medical Biotechnology, Faculty of Biochemistry, Biophysics and Biotechnology,  
Jagiellonian University, Gronostajowa 7, 30-387 Kraków*

<sup>2</sup> *Malopolska Centre of Biotechnology, Jagiellonian University, Gronostajowa 7A, 30-387 Kraków*  
<sup>3</sup> *Kardio-Med Silesia, Marii Curie-Skłodowskiej 10C, 41-800 Zabrze*

Duchenne muscular dystrophy (DMD), a debilitating genetic disease caused by the lack of dystrophin is characterized by progressive muscle weakening and degeneration. Interestingly, dystrophin is also expressed in endothelial cells (ECs), suggesting that the angiogenesis process might have an impact on DMD pathology.

We demonstrated that the level of several angiogenesis-related genes is changed in gastrocnemius of mdx mice (a mouse model of the disease) in comparison to wild-type animals, with, among others, pro-angiogenic *Vegfa* being strongly downregulated, as evidenced by RNA sequencing analysis and confirmed by real-time PCR. *Kdr* and *Cxcl12* expression were also potently diminished in dystrophic muscles. Additionally, we noticed that *Kdr* mRNA expression is decreased in ECs isolated from the lungs of mdx mice. Moreover, by applying proteome-based angiogenesis arrays we revealed that the level of pro- and anti-angiogenic proteins is significantly changed in mdx animals.

To better understand the pathology of DMD in human subjects we generated induced pluripotent stem cells (iPSCs) from peripheral blood/fibroblasts of a healthy donor and DMD patient. Additionally, using CRISPR/Cas9 method we established isogenic cell line with deletion of exon 50 in the DMD gene. Successfully optimized differentiation protocol was utilized in order to obtain endothelial cells (iPSCs-ECs). Decreased expression of endothelial markers, CD31 and VE-cadherin, as well as impairment in the angiogenic potential in tube formation assay on Matrigel of cells devoid of dystrophin, were evident. Moreover, the level of osteopontin, the marker of fibrosis and inflammation was increased in the DMD iPSCs-ECs.

In conclusion, we demonstrated that angiogenesis is altered in DMD. iPSCs-ECs are a helpful tool for understanding the angiogenesis-related changes in the pathology of DMD.

Supported by grant No. 2016/21/B/NZ1/00293 (A.Ł.) from the National Science Centre of Poland. O. Mucha and P. Podkalicka equally contributed to this work.

TYMODDYCHAM.UJ.EDU.PL —  
WYKORZYSTANIE UNIWERSYTECKIEJ SIECI DETEKTORÓW  
SMOGU DLA SPOŁECZEŃSTWA I NAUKI

INHALATION.UJ.EDU.PL —  
THE USAGE OF UNIVERSITY SMOG DETECTING SYSTEM FOR SOCIETY AND SCIENCE

ZENON NIECKARZ

*Zakład Doświadczalnej Fizyki Komputerowej, Instytut Fizyki im. Mariana Smoluchowskiego,  
Wydział Fizyki, Astronomii i Informatyki Stosowanej, Uniwersytet Jagielloński,  
Łojasiewicza 11, 30-348 Kraków*

Obecnie nie ma już wątpliwości, że w społeczeństwie istnieje zapotrzebowanie na informacje o jakości powietrza. Wynika to z dużej świadomości wśród mieszkańców miast i wsi, że jakość powietrza realnie wpływa na nasze zdrowie i jakość życia. W dużych miastach wiarygodnym źródłem informacji są stacje pomiarowe Wojewódzkiego Inspektoratu Ochrony Środowiska (WIOŚ), natomiast w mniejszych miejscowościach takie pomiary są wykonywane przez WIOŚ sporadycznie. Jak łatwo się domyślić, powodem są bardzo duże koszty wysokiej klasy sprzętu, jakim posługuje się WIOŚ. W tej sytuacji, ze względu na koszty aparatury, pozyskiwanie informacji o jakości powietrza na terenie mniejszych miejscowości nie jest rozpowszechnione. Wychodząc naprzeciw oczekiwaniom małych społeczności, które także oczekują informacji o jakości powietrza, którym oddychają, powstała sieć pomiarowa zaprojektowana i zbudowana w ramach Wydziału Fizyki, Astronomii i Informatyki Stosowanej Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie. W referacie zaprezentowane zostaną: sposób funkcjonowania sieci, metody kalibracji detektorów oraz możliwości techniczne rozbudowy sieci i detektorów w przyszłości. Obecny stan sieci to kilkadziesiąt detektorów, które pracują od kilku lat i wykonują pomiary stężenia pyłu zawieszonego w powietrzu, a wyniki pomiarów można obserwować w czasie rzeczywistym na stronie <http://tymoddycham.uj.edu.pl>. Informacje gromadzone przez sieć służą do informowania społeczności, ale będą także przedmiotem opracowań naukowych. W trakcie referatu zaprezentowany zostanie także wypracowany model współpracy w zakresie monitorowania jakości powietrza, który obejmuje teren gmin Skawina i Kalwaria Zebrzydowska. Przedstawione zostaną schematy i dotychczasowe rezultaty wspólnych działań Uniwersytetu i Gmin.

## BARWIENIE ZA POMOCĄ TETRAZOLIUM W OCENIE WIELKOŚCI STREFY ZAWAŁU MIĘŚNIA SERCOWEGO — METODYKA

### TETRAZOLIUM STAINING IN MYOCARDIAL INFARCTION SIZE MEASUREMENT — METHODOLOGY

MAGDALENA NIEDZIELA<sup>1</sup>, MAŁGORZATA WOJCIECHOWSKA<sup>2</sup>, KATARZYNA CZARZASTA<sup>2</sup>,  
ANITA TROJANOWSKA<sup>1</sup>, SONIA BORODZICZ<sup>3</sup>, TOMASZ CIESIELSKI<sup>2</sup>,  
AGNIESZKA CUDNOCH-JĘDRZEJSKA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Katedra i Zakład Fizjologii Doświadczalnej i Klinicznej, Warszawski Uniwersytet Medyczny,  
Żwirki i Wigury 61, 02-091 Warszawa*

<sup>2</sup> *Laboratorium Katedry i Zakładu Fizjologii Doświadczalnej i Klinicznej, Centrum Badań Przedklinicznych,  
Warszawski Uniwersytet Medyczny, Banacha 1B, 02-097 Warszawa*

<sup>3</sup> *I Katedra i Klinika Kardiologii, Uniwersyteckie Centrum Kliniczne, Warszawski Uniwersytet Medyczny,  
Banacha 1A, 02-097 Warszawa*

There are various methods of assessing experimentally induced myocardial infarction (MI) size. One of them is triphenyltetrazolium staining. This technique uses the ability of dehydrogenase enzymes and cofactors in the living tissue to react with tetrazolium salts to form a red pigment (formazin).

After experimental MI induction in rat heart, achieved by 30-min left anterior descending artery (LAD) occlusion and followed by 60-min reperfusion, we occlude LAD again and administer 2 ml of 5% Evans Blue intravenously. All perfused tissues are colorized dark blue and the myocardium supplied by the occluded artery remains light pink (area at risk). Next, we extract the heart, wrap it with tinfoil to avoid drying and place into a freezer for about 20 min at  $-20^{\circ}\text{C}$ . Then, we cut the heart into 2–3 mm slices and incubate them in previously prepared buffered triphenyltetrazolium solution (pH 7.4) in bead bath for 20 min at  $37^{\circ}\text{C}$ . The surviving tissue turns deep red. Ultimately, we place myocardial slices in 10% formalin for 20 min to fix the colours and increase the contrast.

Myocardium is finally stained with 3 colours: blue (beyond the zone perfused by LAD), red (ischemic but non-necrotic areas) and light pink (infarct). Infarct size is expressed as a percentage of the area at risk. To calculate it, we scan both sides of myocardial slices using a cover glass with 2 mm shims in the corners to ensure desired slice thickness. The scans are then analysed using ImageJ program. By multiplying particular areas times slices thickness and summing the results, total infarct volume is calculated.

We believe that tetrazolium staining is a reliable and easy method of identifying experimental MI size.

PODWYŻSZONA SPOCZYNKOWA AKCJA SERCA ORAZ WYSOKIE  
 SKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE SĄ POWIĄZANE  
 Z WYSTĘPOWANIEM NIEZGODNOŚCI OCEN NIEDOKRWIENIA  
 PRZY UŻYCIU INDEKSÓW SPOCZYNKOWYCH (RFR)  
 ORAZ HYPEREMICZNYCH (FFR)

HIGHER BASELINE HEART RATE AND SYSTOLIC BLOOD PRESSURE ARE ASSOCIATED  
 WITH DISCREPANCY BETWEEN RESTING AND HYPERAEMIC INDICES  
 OF MYOCARDIAL ISCHAEMIA

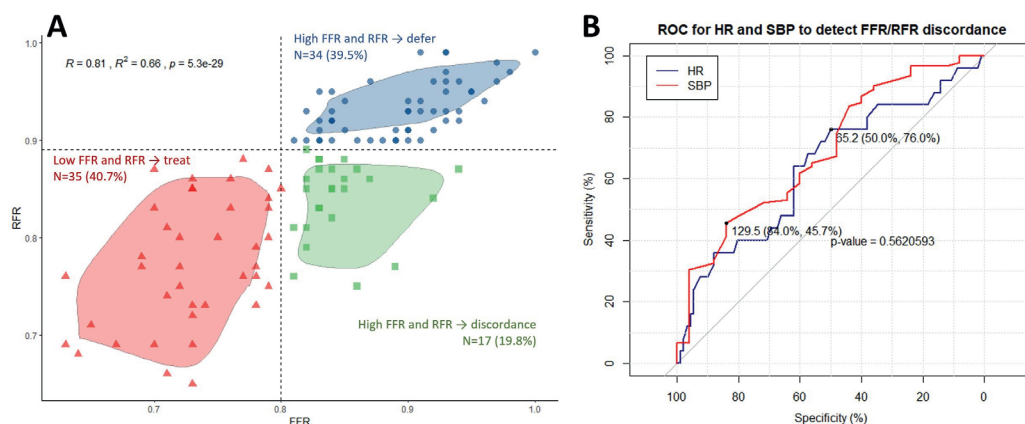
ŁUKASZ NIEWIARA, BARTŁOMIEJ GUZIK, KRZYSZTOF ŻMUDKA,  
 PIOTR SZOLC, ELŻBIETA OSTROWSKA-KAIM, WOJCIECH ZAJDEL, JACEK LEGUTKO

*Jagiellonian University Dept of Interventional Cardiology, John Paul II Hospital, Prądnicka 80, 31-202 Kraków*

Coronary revascularization based on functional invasive stenosis assessment is a current standard of care in borderline lesions. Observed discrepancy is potentially harmful regarding patients treatment. No marker of RFR-FFR discrepancy was developed up to this moment.

We analysed 117 vessels in 86 patients with stable CAD, undergoing physiological assessment. Resting flow-cycle ratio was calculated using dedicated software [Abbott, US]. FFR measurements were performed during maximal hyperaemia induced by iv infusion of 140 µg/kg/min of adenosine. Mean age of patients was 65.8 years ( $SD = 8.7$ ), including 63 (73.3%) male.

Based on RFR and FFR cut off values 0.80 and 0.89 respectively, patients were divided into 3 groups (details see Figure A), which were similar in terms of risk factors of CAD, symptoms or



demography or angiographic finding with mean stenosis of 43%. Group with discordant RFR and FFR measurements had significantly higher heart rate 73 bpm compared to 64 bpm ( $SD = 8.9$ ) in concordant low group and 68.6 ( $SD = 11.2$ ) in concordant high group ( $p = 0.021$ ). Similarly, highest blood pressure was measured in discordant RFR and FFR group (146 mmHg,  $SD = 19.4$ ) compared to 131 mmHg ( $SD = 21.7$ ) and 133 mmHg ( $SD = 20.2$ ) respectively.

ROC analysis was presented in Figure B. Both HR and SBP were characterized by moderate sensitivity and specificity.

High SBP and higher HR were associated with RFR-FFR discordance in patients with stable CAD undergoing assessment of borderline stenosis.

NOWA STRATEGIA LECZENIA CHOROÓB UKŁADU SERCOWO-  
-NACZYNIOWEGO POPRZEZ ZWIĘKSZONĄ PODAŻ TLENU DO  
MIĘŚNIA SERCOWEGO PRZY UŻYCIU TRIS PIROFOSFORANU  
MIOINOZYTOLU (ITPP). BADANIE PILOTAŻOWE W MODELU  
POZAWAŁOWEJ NIETYDOLNOŚCI SERCA U SZCZURA

OXYGEN DELIVERY ENHANCEMENT BY MYO-INOSITOL TRIS PYROPHOSPHATE (ITPP)  
FOR THE TREATMENT OF CARDIOVASCULAR DISEASES.  
PILOT STUDY ON THE MODEL OF POST-INFARCTION HEART FAILURE IN A RAT

MARTA OKNIŃSKA<sup>1</sup>, ALEKSANDRA PATEREK<sup>1</sup>, KLAUDIA BRODACZEWSKA<sup>2</sup>,  
CLAUDINE KIEDA<sup>2</sup>, MICHAŁ MĄCZEWSKI<sup>1</sup>, URSZULA MACKIEWICZ<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zakład Fizjologii Klinicznej, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego,  
Marymoncka 99/103, 01-813 Warszawa

<sup>2</sup> Laboratorium Onkologii Molekularnej, Wojskowy Instytut Medyczny, Szaserów 128, 04-141 Warszawa

Hipoksja jest główną przyczyną chorób układu krążenia, głównie zawału mięśnia sercowego i przewlekłej niewydolności serca. Ostatnio pokazano, że tris pirofosforan mioinozytolu (ITPP), nowy allosteryczny efektor hemoglobiny, zwiększa zdolność uwalniania tlenu przez krwinki czerwone i tym samym zwiększa podaż tlenu do tkanek. Dotychczas wykazano, że ITPP poprzez zmniejszenie hipoksji guzów wywiera działanie przeciwnowotworowe. Wpływ ITPP na funkcję i przebudowę serca po zawale nie był badany.

Celem pracy było zbadanie, czy ITPP zwalnia progresję niewydolności serca po zawale serca u szczura.

U szczurów rasy Wistar indukowano rozległy zawał lewej komory lub wykonano operację pozorną. Po 4 tygodniach obserwacji zwierzęta po zawale i kontrolne losowo przydzielono do dwóch podgrup. W jednej podgrupie szczury otrzymywały 2 razy w tygodniu dootrzewnowo ITPP (1,5 g/kg m.c.), a w drugiej sól fizjologiczną przez kolejne 4 tygodnie. W odstępach tygodniowych wykonywano badanie echokardiograficzne i oceniano wymiary oraz funkcję lewej komory (LK). Po 8 tygodniach od operacji pobierano serce, izolowano kardiomiocyty i rejestrowano ich czynność skurczową.

Po upływie 4 tygodni od indukcji zawału obserwowaliśmy nasiloną przebudowę LK objawiającą się istotnym wzrostem jej objętości końcoworozkurczowej i spadkiem frakcji wyrzutowej. ITPP zahamował dalszy wzrost wymiarów LK i zwolnił spadek frakcji wyrzucania LK. Nie obserwowaliśmy żadnego wpływu ITPP na wymiary LK i jej funkcję u zwierząt kontrolnych. ITPP nie miał również wpływu na kurczliwość kardiomiocytów ani w sercach po indukcji zawału, ani po operacji pozornej.

Uzyskane wyniki sugerują, że ITPP hamuje patologiczną przebudowę LK po zawale serca u szczura, prawdopodobnie ograniczając indukowaną hipoksją utratę kardiomiocytów, a nie poprawiając ich funkcję. Mechanizm korzystnego działania ITPP wymaga dalszych badań, ale podawanie ITPP w niewydolności serca wydaje się być obiecującą strategią leczenia.

## ZAPOBIEGANIE KOMOROWYM ZABURZENIOM RYTMU W CIĘŻKIEJ NIEWYDOLNOŚCI SERCA PRZEZ IWABRADYNĘ

PREVENTION OF VENTRICULAR ARRHYTHMIAS IN SEVERE HEART FAILURE  
 OBTAINED WITH IVABRADINE

ALEKSANDRA PATEREK<sup>1</sup>, MARTA OKNIŃSKA<sup>1</sup>, BARBARA SOCHANOWICZ<sup>2</sup>,  
 MARCIN KRUSZEWSKI<sup>2</sup>, URSZULA MACKIEWICZ<sup>1</sup>, PRZEMYSŁAW LESZEK<sup>3</sup>,  
 MICHAŁ MĄCZEWSKI<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zakład Fizjologii Klinicznej, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego,  
 Marymoncka 99/103, 01-813 Warszawa

<sup>2</sup> Instytut Chemii i Techniki Jądrowej, Centrum Radiobiologii i Dozymetrii Biologicznej,  
 Dorodna 16, 03-195 Warszawa

<sup>3</sup> Instytut Kardiologii, Klinika Niewydolności Serca i Transplantologii, Alpejska 42, 04-628 Warszawa

**Background:** Ventricular arrhythmias are common finding in heart failure (HF) subjects and important cause of mortality as well. Among several potential arrhythmic mechanisms, recently, the increase expression of HCN4 channel (blocked by Ivabradine) in failing ventricular myocytes was found. From the other site, even therapeutic short-term iv. infusion of inotropes used to rise blood pressure and maintain vital organ perfusion/function in decompensated HF, may cause life threatening ventricular tachycardia (VT).

**Aim:** To determine the influence of Inotropic / Ivabradine treatment on VT in severe HF subjects.

**Methods:** Wistar rats were subjected to sham operation (ShO) or MI induction led to EF reduction <35% (HF) subgroup. After 4 weeks, ShO and HF animals were subdivided into 4 groups: 1. dopamine (10 µg/min/kg), 2. ivabradine (10 mg/day/kg), 3. dopamine+ivabradine (10 µg/min/kg + 10 mg/day/kg), 4. NaCl — for 2-weeks infusion in each group (subcutaneous Alzet osmotic pump). For the first 48 hours of respective infusions, ECG was continuously monitored by telemetry. At the end rats were euthanized and HCN4 expression on protein level in left ventricle (LV) were assessed.

**Results:** Dopamine infusion significantly increased heart rate (HR) both in ShO also in HF rats. Ivabradine reduced HR in both ShO and HF groups. Moreover the incidence of ventricular tachycardia (VT) increased in HF groups: HF+dopaminevs HF+NaCl groups, whereas ivabradine treatment completely prevented VT in HF animals regardless treatment (HF+dopamine / HF+NaCl). On protein levels we observed significant increase HCN4 expression in HF+NaCl group compared to ShO+NaCl group whereas in all ShO groups — HCN4 expression didn't change regardless of treatment regimen.

**Conclusions:** HF treatment with inotropes lead to the increase in HR and VT while Ivabradine effectively prevented both HR increase and VT presence. It was related to HCN4 blockade with Ivabradine, rather not the level of HCN4 expression.

## KANNABIDIOL MODYFIKUJE PARAMETRY STRESU OKSYDACYJNEGO W SERCU I OSOCZU SZCZURÓW Z NADCIŚNIENIEM PIERWOTNYM I WTÓRNYM

CANNABIDIOL MODIFIES PARAMETERS OF OXIDATIVE STRESS IN HEART  
AND PLASMA OF RATS WITH PRIMARY AND SECONDARY HYPERTENSION

PATRYK REMISZEWSKI<sup>1</sup>, MAREK TOCZEK<sup>1</sup>, MICHAŁ BIERNACKI<sup>2</sup>,  
MAGDALENA TIMOSZUK<sup>2</sup>, ANNA JASTRZĄB<sup>2</sup>, BARBARA MALINOWSKA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Zakład Fizjologii i Patofizjologii Doświadczalnej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku,  
Mickiewicza 2A, 15-222 Białystok*

<sup>2</sup> *Zakład Chemii Nieorganicznej i Analitycznej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku,  
Mickiewicza 2D, 15-222 Białystok*

**Wstęp:** Kannabidiol (CBD) jest pozbawionym działania psychoaktywnego kannabinoidem pochodzącym z konopii indyjskich (*Cannabis sativa* L.). Charakteryzuje go silna zdolność do zmniejszania stresu oksydacyjnego, co zostało wykazane w szeregu tkankach izolowanych ze zwierzęcych modeli doświadczalnych różnych chorób.

**Cel:** Celem pracy było zbadanie wpływu CBD na wybrane parametry stresu oksydacyjnego w sercu i osoczu szczurów z nadciśnieniem tętniczym pierwotnym i wtórnym oraz normotensyjnych szczurów kontrolnych.

**Metody:** Doświadczenia przeprowadzono na szczurach z nadciśnieniem spontanicznym (SHR) i wtórnym DOCA-salt (indukowane, wysokosodowe) oraz odpowiadających im normotensyjnych kontrolach — odpowiednio Wistar Kyoto (WKY) oraz pozornie operowanych (SHAM). CBD w dawce 10 mg/kg m.c. lub jego rozpuszczalnik podawano co 12 godzin przez 14 dni. Szczury SHR i DOCA-salt wykazywały statystycznie wyższe ciśnienia na początku doświadczeń niż normotensyjne szczury kontrolne.

**Wyniki:** Nadciśnienie (SHR i DOCA-salt) było związane przede wszystkim ze wzrostem peroksydacji lipidów (podwyższone parametry MDA, 4-HNE i 4-HHE) oraz zmianami nieenzymatycznych parametrów stresu oksydacyjnego (spadek stężenia GSH i wzrost GSSG).

CBD spowodował głównie obniżenie parametrów peroksydacji lipidów (SHR i DOCA-salt) w obu tkankach, ponadto wzrost stężenia GSH w sercu i osoczu oraz spadek stężenia GSSG w sercu szczurów DOCA-salt, a także spadek zawartości grup karbonylowych w osoczu szczurów SHR. W normotensji CBD spowodował jednak wzrost stężenia parametrów peroksydacji lipidów u szczurów WKY (obie tkanki) oraz SHAM (osocze). Poza tym pod wpływem CBD spadło stężenie witamin A i E w sercu szczurów SHR.

**Wnioski:** (1) CBD osłabia stres oksydacyjny zarówno w sercu, jak i osoczu szczurów niezależnie od modelu nadciśnienia. (2) U szczurów normotensyjnych CBD może podwyższać stres oksydacyjny, co należy brać pod uwagę przy jego stosowaniu.

Praca finansowana przez Narodowe Centrum Nauki, nr grantu: 2015/19/B/NZ7/02270.



## SAMOORGANIZUJĄCA SIĘ KRYTYKALNOŚĆ W DYNAMICE SKRZEPU U MYSZY IN VIVO

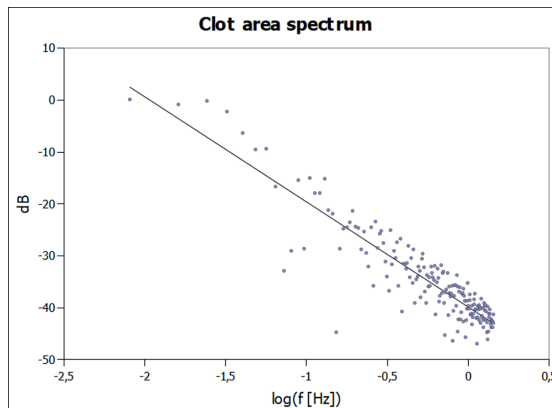
SELF-ORGANIZING CRITICALITY IN CLOTH DYNAMICS IN IN VIVO MICE

KAMIL STEFAŃCZYK<sup>1</sup>, TEODOR BUCHNER<sup>1</sup>, ANNA GROMOTOWICZ-POPŁAWSKA<sup>2</sup>,  
 EWA CHABIELSKA<sup>2</sup>, NATALIA MARCIŃCZYK<sup>2</sup>, MICHAŁ ALEKSIEJCZUK<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Wydział Fizyki, Politechnika Warszawska, Koszykowa 75, 00-662 Warszawa

<sup>2</sup> Zakład Biofarmacji, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, Mickiewicza 2C, 15-222 Białystok

Model samoorganizującej się krytykalności opisuje w fizyce procesy takie jak lawiny, w których po etapie akumulacji następuje uwolnienie energii. Widmo mocy takich procesów wykazuje skalowanie potęgowe, co wymaga identyfikacji parametru opisującego dynamikę czasową procesu. W pracy przeanalizowano sekwencję obrazów z mikroskopu konfokalnego dla tętnicy krezkowej uzyskaną in vivo dla myszy GFP, dla różnych czynników biochemicznych modyfikujących proces krzepnięcia. Opracowany w pracy algorytm, oparty na bibliotece OpenCV pozwolił na automatyczny pomiar pola powierzchni skrzepu i jego dynamiki w czasie. Następnie zmierzono parametry skalowania potęgowego dla widma mocy sygnału pola powierzchni skrzepu. Pomiar wykazał, że dla różnych czynników pro- i przeciwzakrzepowych proces rozpuszczania skrzepu ma dynamikę typową dla występujących często w przyrodzie szumów  $1/f^\alpha$ , typowych również dla zjawiska samoorganizującej się krytykalności. Obserwowane wartości parametru alfa dla przebadanych pięciu póbek miały rozrzut od 1,013 do 1,557, błąd względny był poniżej 1%, a współczynnik korelacji  $R^2$  — od 70 do 80%, co świadczy o bardzo dobrym dopasowaniu. Wynik świadczy o tym, że proces rozpuszczania skrzepu należy do szerokiej klasy uniwersalności, co otwiera możliwość użycia licznych metod analizy typowych dla tej klasy. Praktyczna użyteczność tej obserwacji zależy od tego, czy uda się wykazać zależność parametrów skalowania od dawki, co będzie przedmiotem dalszych badań.



KARDIOMIOCYTY OTRZYMANE Z LUDZKICH INDUKOWANYCH  
KOMÓREK PLURIPOTENCJALNYCH, W PRZECIWIENSTWIE  
DO KOMÓREK STROMALNYCH IZOLOWANYCH Z TŁUSZCZU,  
POPRAWIAJĄ FUNKCJĘ SERCA PO PODANIU W MYSIM MODELU  
ZAWAŁU MIĘŚNIA SERCOWEGOINDUCED PLURIPOTENT STEM CELLS-DERIVED CARDIOMYOCYTES IN CONTRAST  
TO ADIPOSE-DERIVED STROMAL CELLS IMPROVE HEART FUNCTION IN MURINE MODEL  
OF MYOCARDIAL INFARCTIONJACEK STĘPNIEWSKI<sup>1</sup>, MATEUSZ TOMCZYK<sup>1</sup>, KALINA ANDRYSIAK<sup>1</sup>,  
IZABELA KRASZEWSKA<sup>1</sup>, ALICJA MARTYNIAK<sup>1</sup>, ALICJA JÓZKOWICZ<sup>1</sup>,  
AGNIESZKA JAŻWA-KUSIOR<sup>1</sup>, JÓZEF DULAK<sup>1,2</sup><sup>1</sup> *Department of Medical Biotechnology, Faculty of Biochemistry, Biophysics and Biotechnology,  
Jagiellonian University, Gronostajowa 7, 30-387 Kraków*<sup>2</sup> *Kardio-Med Silesia, Marii Curie-Skłodowskiej 10C, 41-800 Zabrze*

Cell therapies are extensively tested to restore proper electromechanical activity of heart after myocardial infarction (MI).

Adipose-derived stromal cells (ADSC), and other so called “stem cells”, however frequently used in pre-clinical and clinical studies do not differentiate into cardiomyocytes which limits their regenerative potential. Human induced pluripotent stem cells-derived cardiomyocytes (hiPSC-CM), on the other hand, may provide suitable cell source for remuscularization of damaged myocardium. Therefore, the aim of this study was to compare therapeutic effect of ADSC and hiPSC-CM overexpressing proangiogenic (SDF-1 $\alpha$ ) as well as anti-inflammatory [heme oxygenase-1 (HO-1)] factors in murine model of MI.

ADSC were transduced with lentiviral vectors enabling overexpression of GFP, luciferase and either HO-1 or SDF-1 $\alpha$ , sorted based on GFP expression and further expanded for in vivo delivery. The same vectors were used to transduce hiPSCs upon which GFP-positive cells were sorted and differentiated into cardiomyocytes using small molecules modulating WNT pathway. Firstly, genetically modified ADSC were administered ( $5 \times 10^5$ ) immediately after MI induction in athymic Nude mice. Performed analysis, however, indicated no therapeutic effect of cell delivery and no ADSC retention in the myocardium. Thus in the next step, similar experiment was performed in the more receptive NOD/SCID strain, however, pronounced mortality of animals (7 out of 10) was observed upon delivery of control ADSC-GFP-Luciferase cells. In contrast, administration of genetically-modified hiPSC-CM provided pronounced enhancement of left ventricular ejection fraction 6 weeks after MI and their presence in murine tissue was confirmed using bioluminescence detection and immunofluorescent analysis.

Performed experiments demonstrated that hiPSC-CM provide better option for cell therapy of MI than ADSC which neither retain in myocardium upon delivery nor improve heart function.

## WPŁYW L-ARGININY I NIKOTYNAMIDU NA PRAWĄ KOMORĘ SERCA U SAMCÓW I SAMIC SZCZURA W DOŚWIADCZALNYM TĘTNICZYM NADCIŚNIENIU PŁUCNYM

THE EFFECT OF L-ARGININE AND NICOTINAMIDE  
ON THE RIGHT VENTRICLE IN MALE AND FEMALE RATS  
IN EXPERIMENTAL PULMONARY ARTERIAL HYPERTENSION

KATARZYNA SZTORMOWSKA-ACHRANOWICZ, IVAN KOCIĆ

*Katedra i Zakład Farmakologii, Gdański Uniwersytet Medyczny, Dębowa 23, 80-208 Gdańsk*

**Wprowadzenie:** Integralność prawej komory serca (RV) w tętnicznym nadciśnieniu płucnym (PAH) jest decydującym czynnikiem mówiącym o przeżywalności oraz rezultacie leczenia pacjentów z PAH. Model doświadczalny indukujący przerost z jednoczesną dysfunkcją skurczową RV w PAH można uzyskać poprzez aplikację monokrotaliny (MCT). Wykazano, że L-arginina (L-Arg) utrzymuje niski indeks prawej komory i zwiększa kurczliwość mięśnia sercowego. Ponadto zmniejsza wpływ stresu oksydacyjnego, który odgrywa kluczową rolę w patogenezie PAH. Nikotynamid (ND) może regulować receptory SUR2A w mięśniu sercowym, zwiększając odporność serca na reakcję niedokrwienia/reperfuzji.

**Cel:** Celem pracy była ocena suplementacji skojarzonej L-argininą i ND na przerost i przebudowę prawej komory serca w PAH indukowanym monokrotaliną.

**Materiał:** Do badania użyto samców (M) i samic (F) szczura Wistar o początkowej masie ciała  $198 \pm 3$  g. W dniu 0. doświadczenia w celu wywołania PAH podano w jednorazowym wstrzyknięciu MCT (60 mg/kg m.c. s.c.). Doustne podawanie L-argininy (2,5% w wodzie do picia) i nikotynamidu (500 mg/kg paszy) rozpoczęto od dnia 7. i trwało do dnia 23. eksperymentu. Zwierzęta podzielono na 8 grup:

[1] MC oraz [2] FC: zwierzęta kontrolne otrzymujące zwykłą paszę; [3] ML-Arg+ND oraz [4] FL-Arg+ND: zwierzęta otrzymujące dietę bogatą w L-argininę i nikotynamid; [5] MPAH oraz [6] FPAH: zwierzęta potraktowane MCT; [7] MPAH+L-Arg+ND oraz [8] MPAH+L-Arg+ND: zwierzęta potraktowane MCT i otrzymujące dietę L-Arg+ND. Po 23 dniach od aplikacji monokrotaliny dokonano oceny stopnia przerostu RV w PAH za pomocą pomiaru masy prawej komory serca.

**Wyniki:** Nadciśnienie tętnicze płucne indukowane monokrotaliną spowodowało wzrost masy RV ( $P < 0,001$ ) zarówno u samców MPAH ( $0,286 \pm 0,008$  g) w porównaniu do: kolejno MC ( $0,174 \pm 0,004$  g) oraz ML-Arg+ND ( $0,19 \pm 0,004$  g), jak i samic FPAH ( $0,259 \pm 0,02$  g) w porównaniu do: kolejno FC ( $0,124 \pm 0,003$  g) oraz FL-Arg+ND ( $0,133 \pm 0,006$  g). Zastosowanie łączonej diety spowodowało obniżenie masy RV ( $P < 0,001$ ) u samców ( $0,213 \pm 0,009$  g) i samic ( $0,116 \pm 0,005$  g) w porównaniu do PAH. Wskaźnik progresji prawej komory serca, tzw. wskaźnik Fluton (RV/LV+S), stanowi wyznacznik, który jest niezależny od końcowej masy ciała. Leczenie L-argininą i nikotynamidem istotnie zmniejszyło stosunek RV/LV+S zarówno

u samców ( $0,29 \pm 0,006$  g/g;  $P < 0,001$ ), jak i u samic ( $0,24 \pm 0,008$  g/g;  $P < 0,001$ ) w porównaniu do MPAH ( $0,46 \pm 0,016$  g/g) oraz FPAH ( $0,63 \pm 0,03$  g/g). Podobnie, leczenie skojarzone znormalizowało stosunek RV do końcowej masy ciała (RBW) (MPAHL-Arg+ND:  $0,7 \pm 0,03$  g/kg,  $P < 0,001$ ; FPAHL-Arg+ND:  $0,48 \pm 0,02$  g/kg,  $P < 0,001$ ) w porównaniu do grupy PAH (MPAH:  $1,04 \pm 0,04$  g/kg; FPAH:  $1,07 \pm 0,07$  g/kg). Z drugiej strony stosunek lewej komory serca z przegrodą (LV+S) do końcowej masy ciała (FBW) w grupie samców otrzymujących suplementację skojarzoną spowodował niewielki, ale statystycznie istotny wzrost wartości ( $P < 0,05$ ) w porównaniu do grupy MC, ML-Arg+ND oraz MPAH. Paradoksalnie u samic w grupie z tętnicznym nadciśnieniem płucnym odnotowano statystycznie istotnie wyraźne obniżenie ( $P < 0,01$ ) wartości wskaźnika LV+S/FBW w porównaniu do pozostałych grup eksperymentalnych. Wskaźnik HW/FBW wykazywał znamienne wzrost wartości u samców z PAH ( $3,28 \pm 0,05$  g/kg) w porównaniu do grupy MC ( $2,74 \pm 0,02$  g/kg;  $P < 0,01$ ) oraz ML-Arg+ND ( $2,74 \pm 0,03$  g/kg;  $P < 0,01$ ), zaś uległ obniżeniu w leczeniu skojarzonym MPAHL-Arg+ND ( $3,08 \pm 0,11$  g/kg;  $P < 0,05$ ). U samic nie zaobserwowano statystycznie istotnych różnic (FC:  $2,48 \pm 0,03$  g/kg; FL-Arg+ND:  $2,52 \pm 0,06$  g/kg; FPAH:  $2,78 \pm 0,11$  g/kg; FPAH+L-Arg+ND:  $2,49 \pm 0,07$  g/kg).

**Wnioski:** PAH prowadzi do przewlekłego obciążenia mięśnia sercowego, co w konsekwencji prowadzi do przerostu prawej komory serca zwłaszcza u samic szczura, co zaobserwowano w niniejszym badaniu. Prawdopodobnie jest to wynik stopniowego wzrostu obciążenia następczego, w wyniku którego w RV następuje reakcja dekompensacyjna (zwłóknienie, dylatacja, przerost i niewydolność RV). Ponadto nadmierny przerost RV u samic z PAH spowodował prawdopodobnie uciśnięcie lewej komory serca (LV), przyczyniając się do obniżenia wartości LV, sugerując dysfunkcję rozkurczową LV. Wyniki sugerują, iż terapia skojarzona L-argininy z nikotynamidem w PAH normalizuje nie tylko masę RV, ale również pozostałe badane wskaźniki, zwłaszcza u osobników płci żeńskiej. Jest to istotna informacja dotycząca leczenia kobiet z PAH, które przeważają wśród pacjentów (4:1). Obecne terapie PAH nie uwzględniają różnicy płci. Przedstawione wyniki sugerują możliwy potencjał terapeutyczny łącznego podawania L-argininy oraz nikotynamidu w PAH.

## NADMIERNY NAPŁYW DO SERCA MAKROFAGÓW POCHODZĄCYCH Z MONOCYTÓW PRZYCZYNIĄ SIĘ DO ROZWOJU NIEWYDOLNOŚCI MIĘŚNIA SERCOWEGO PO ZAWALE

EXCESSIVE INFILTRATION OF MONOCYTE-DERIVED MACROPHAGES INTO  
THE CARDIAC MUSCLE CONTRIBUTES TO HEART FAILURE PROGRESSION  
AFTER MYOCARDIAL INFARCTION

MATEUSZ TOMCZYK<sup>1</sup>, IZABELA KRASZEWSKA<sup>1</sup>, NELI KACHAMAKOVA-TROJANOWSKA<sup>2</sup>,  
JÓZEF DULAK<sup>1,3</sup>, AGNIESZKA JAŻWA-KUSIOR<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Department of Medical Biotechnology, Faculty of Biochemistry, Biophysics and Biotechnology,  
Jagiellonian University, Gronostajowa 7, 30-387 Kraków*

<sup>2</sup> *Malopolska Centre of Biotechnology, Jagiellonian University, Gronostajowa 7A, 30-387 Kraków*

<sup>3</sup> *Kardio-Med Silesia, Marii Curie-Skłodowskiej 10C, 41-800 Zabrze*

During the first few days after myocardial infarction (MI), blood monocytes abundantly infiltrate the ischemic and border regions of the heart and differentiate into macrophages. Inflammation is essential for orchestrating post-MI cardiac repair, however its timely resolution is necessary for appropriate cardiac repair. Heme oxygenase 1 (HO-1) is a heme-degrading enzyme that can modulate monocyte/macrophage-mediated immune responses. We have recently shown that HO-1 knockout (KO) mice subjected to MI show higher numbers of inflammatory monocytes in peripheral blood, increased monocyte chemoattractant protein (MCP)-1-dependent MDMs infiltration into myocardium and a more potent deterioration of post-MI heart function than their WT littermates.

The aim of this study was to better understand the mechanisms and consequences of the post-MI immune responses as well as the role of HO-1 in suppression of post-MI inflammation.

Neonatal hearts of HO-1 KO mice expressed higher levels of MCP-1 and contained more monocytes and macrophages indicating accelerated monocyte influx into the myocardium starting shortly after birth. In adult HO-1 KO mice, blocking the MCP-1-dependent recruitment of monocytes with a small molecule antagonist of C-C motif chemokine receptor 2 (CCR2) improved the post-MI cardiac function. In order to deplete tissue-resident macrophages and impose the infiltration of MDMs into the cardiac tissue of WT mice, we delivered liposome-encapsulated clodronate (CLIP) before subjecting these mice to MI. We found that CLIP+MI procedure resulted in aggravation of MI consequences and heart failure progression in WT mice.

In conclusion, HO-1 deficiency accelerates the turnover of cardiac macrophages in steady-state and after MI. In WT mice, the CLIP-imposed MDMs infiltration results in development of a more severe heart failure. Blocking the MDMs infiltration may be a good strategy to alleviate the consequences of MI.

## ZMIANY W EKG W PRZEBIEGU NIEDOKRWIENIA I REPERFUZJI MIĘŚNIA SERCOWEGO U SZCZURÓW

ECG CHANGES DURING MYOCARDIAL ISCHEMIA-REPERFUSION INJURY IN RATS

ANITA TROJANOWSKA, MAŁGORZATA WOJCIECHOWSKA, KATARZYNA CZARZASTA,  
 MAGDALENA NIEDZIELA, SONIA BORODZICZ, TOMASZ CIESIELSKI,  
 AGNIESZKA CUDNOCH-JĘDRZEJEWSKA

*Laboratorium Katedry i Zakładu Fizjologii Doświadczalnej i Klinicznej, Centrum Badań Przedklinicznych,  
 Warszawski Uniwersytet Medyczny, Banacha 1B, 02-097 Warszawa*

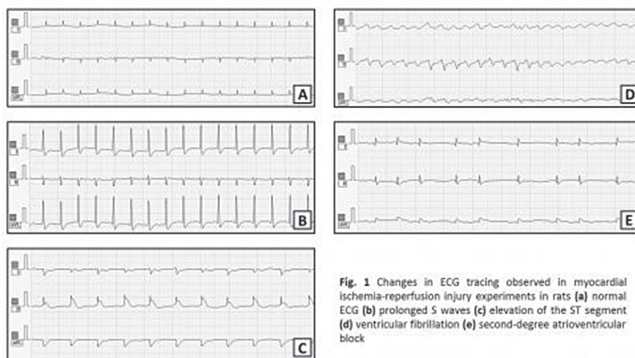
**Introduction:** Rat model of ischemia-reperfusion injury remains one of the most popular models in the field of experimental cardiology.

**Aim of the study:** Our aim was to evaluate typical changes in ECG tracings during ischemia and reperfusion and to identify the most common arrhythmias.

**Methods:** The experiments were performed on male and female SPRD rats. The animals were subjected to 30 minutes of ischemia due to ligation of the left anterior descending artery (LAD), followed by 60 minutes of reperfusion. We conducted continuous ECG monitoring throughout the experiments using electrodes located on the limbs.

**Results:** The earliest and the most prominent changes in ECG tracing we observed right after proper ligation of the LAD were wide S waves in leads I and aVL. After a few minutes, elevation of the ST segment became visible. Moreover, ST segment elevation without preceding S wave widening was usually a sign of improper LAD ligation. Ventricular rhythms, atrioventricular blocks of all degrees and other arrhythmias were typical for both periods of the experiments.

**Conclusions:** We believe that our findings may be helpful in assessing whether ligation of the left anterior descending artery was successful, which is a crucial step in ischemia-reperfusion injury experiments.



**Fig. 1** Changes in ECG tracing observed in myocardial ischemia-reperfusion injury experiments in rats (a) normal ECG (b) prolonged S waves (c) elevation of the ST segment (d) ventricular fibrillation (e) second-degree atrioventricular block

## NIEPRAWIDŁOWA BUDOWA I CZYNNOŚĆ FIBRYNY — NOWY CZYNNIK RYZYKA POWIKŁAŃ ZAKRZEPOWO-ZATOROWYCH

ABNORMAL STRUCTURE AND FUNCTION OF FIBRIN:  
A NEW RISK FACTOR FOR THROMBOEMBOLIC EVENTS

ANETTA UNDAŚ

*Zakład Kardiologii, Anestezjologii i Kardiologii Doświadczalnej,  
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, Prądnicka 80, 31-202 Kraków  
Krakowskie Centrum Badań i Technologii Medycznych,  
Krakowski Szpital Specjalistyczny im. Jana Pawła II, Prądnicka 80, 31-202 Kraków*

Fibryna, ostateczny efekt działania osoczowego układu krzepnięcia, stanowi podstawowy element tworzący wewnątrznaczyniowe zakrzepy w układzie żylnym i tętniczym. Właściwości fibryny, zwłaszcza gęstość powstającej sieci uwarunkowana czynnikami genetycznymi i w większym stopniu środowiskowymi, mają ważne znaczenie w fizjologicznej hemostazie oraz w patologicznej zakrzepicy, a także przyczyniają się do rozwoju blaszek miażdżycowych. Tzw. prozakrzepowy fenotyp fibryny, obejmujący tworzenie zbitych sieci włókien fibryny stosunkowo opornych na plazminę obserwuje się u chorych po zakrzepicy żyłnej i/lub zatorowości płucnej, zawale serca, udarze niedokrwiennym mózgu oraz u osób z większością czynników ryzyka miażdżycy, zwłaszcza cukrzycą, palących papierosy, otyłych. Silnie niekorzystne cechy fibryny opisano także w chorobach nowotworowych i zapalnych częściowo poprzez wzrost fibrynogenu oraz generacji trombiny. Ostatnio wykazano, że takie prozakrzepowe właściwości fibryny, odzwierciedlone przez obniżoną przepuszczalność osoczowego skrzepu fibrynowego i jego upośledzoną degradację pod wpływem enzymów fibrynolitycznych oceniane in vitro, pozwalają przewidzieć nawroty żyłnej choroby zakrzepowo-zatorowej, w tym u pacjentów z zespołem antyfosfolipidowym, i ich powikłania, np. zespół pozakrzepowy, oraz tętnicze incydenty zakrzepowo-zatorowe u chorych z migotaniem przedsionków i po zawale serca. Analiza proteomiczna skrzepów fibrynowych wykazała obecność prawie 500 białek na ich powierzchni, w tym lipoprotein i składowych dopełniacza, co podkreśla złożone oddziaływania między fibryną i pozostałymi elementami krwi. Silne działania posttranslacyjne modyfikacji białek, w tym ich oksydacja i glikacja, także przyczyniają się do zmian właściwości i budowy sieci fibryny. Wiele leków, nie tylko przeciwkrzepliwych, ale także takich jak kwas acetylosalicylowy i statyny, zmieniają korzystnie strukturę fibryny. Modyfikacja struktury i czynności fibryny może być nowym celem terapeutycznym w leczeniu i prewencji incydentów zakrzepowo-zatorowych.



ANALIZA SPRZĘŻENIA CZYNNOSCIOWEGO  
POMIĘDZY PODATNOŚCIĄ DUŻYCH TĘTNIC I RYTMEM SERCAANALYSIS OF FUNCTIONAL COHERENCE BETWEEN BIG ARTERY  
COMPLIANCE AND HEART RHYTHMTOMASZ WIERZBA<sup>1</sup>, STANISŁAW ZAJĄCZKOWSKI<sup>1</sup>, ARTUR POLIŃSKI<sup>2</sup><sup>1</sup> *Katedra i Zakład Fizjologii, Gdański Uniwersytet Medyczny, Dębinki 1, 80-211 Gdańsk*<sup>2</sup> *Katedra Inżynierii Biomedycznej, Wydział Elektroniki i Telekomunikacji, Politechnika Gdańska, Narutowicza 11/12, 80-980 Gdańsk*

Zsynchronizowanie chwilowego napięcia dużych pni tętniczych, z przepływem krwi wyłaczanej z lewej komory do aorty jest w modelowych układach warunkiem zoptymalizowania wydatku energetycznego związanego z dostarczeniem niezbędnych substratów do tkanek obwodowych. Celem badań wykonanych z udziałem 30 zdrowych ochotników w przedziale wiekowym 65–74 lata była ocena koherencji między podatnością dużych pni tętniczych i rytmem serca. Ekg oraz fala tętna z tętnicy szyjnej wewnętrznej i tętnicy udowej były równocześnie zarejestrowane w warunkach spoczynkowych. Wyznaczono różnicę czasu dotarcia fali tętna do czujnika szyjnego i udowego (cfTT), co przy zmierzonej indywidualnej odległości między czujnikami pozwoliło na obliczenie szybkości fali tętna (cfPWV), która jest czynnościowym wskaźnikiem podatności dużych pni tętniczych. Serie czasowe 256 kolejnych odstępów RR i cfTT posłużyły do analizy zmienności rytmu serca (HRV) i zmienności szybkości fali tętna (cfPWV). Analizę spektralną obu widm zmienności przeprowadzono w 0,0078-hercowych pasmach częstotliwościowych, w zakresie od 0,02 do 0,7 Hz, przy wykorzystaniu metody FFT. W arbitralnie wyselekcjonowanych pięciu pasmach częstotliwościowych wyznaczono średnią gęstość mocy widma HRV i cfPWV oraz wzajemną koherencję (MSC). U większości ochotników o małej (poniżej 7 m/s) lub nieprawidłowo dużej (powyżej 11 m/s) cfPWV odnotowano jedynie sporadyczną synchronizację pomiędzy HRV i cfPWV, natomiast u osób z cfPWV w przedziale od 7 do 11 m/s stwierdzono wysoką koherencję cfPWV i HRV. Można zatem przyjąć, że jedynie u osób z nieznacznie zredukowaną podatnością ścian tętniczych dochodzi do skutecznej synchronizacji czynnościowej pomiędzy napięciem mięśniówki pni tętniczych i rytmem serca. Przy wysokiej — fizjologicznej podatności naczyń, a także przy ich znacznym usztywnieniu mechanizmy regulacyjne sprzęgające czynnościowo naczynia tętnicze z lewą komorą serca nie wydają się odgrywać istotnej roli.



TRANSKRYPTOMOWA ANALIZA EKSPRESJI  
 GENÓW W MIOKARDIUM MYSZY  
 I KORELACJA Z OBRAZOWANIEM FUNKCYJNYM

GLOBAL GENE EXPRESSION IN MOUSE MYOCARDIUM  
 AND ITS CORRELATION WITH FUNCTIONAL IMAGING

AGNIESZKA ZIMNA<sup>1</sup>, TOMASZ KOLANOWSKI<sup>2</sup>, KAROLINA BEDNAROWICZ<sup>1</sup>,  
 KATARZYNA FIEDOROWICZ<sup>1</sup>, MICHAŁ FIEDOROWICZ<sup>3</sup>, ANNA RUGOWSKA<sup>1</sup>,  
 NATALIA ROZWADOWSKA<sup>2</sup>, MACIEJ KURPISZ<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zakład Biologii Rozrodu i Komórek Macierzystych, Instytut Genetyki Człowieka, Polska Akademia Nauk,  
 Strzeszyńska 32, 60-479 Poznań

<sup>2</sup> Zakład Patologii Molekularnej, Instytut Genetyki Człowieka, Polska Akademia Nauk,  
 Strzeszyńska 32, 60-479 Poznań

<sup>3</sup> Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego, Polska Akademia Nauk,  
 Pawińskiego 5, 02-106 Warszawa

**Wstęp:** Podejścia regeneracyjne w leczeniu serca pozawałowego skupiają się głównie na poprawie perfuzji w obszarze uszkodzonego miokardium. Włączenie terapii z użyciem komórek macierzystych powinno być poprzedzone poznaniem molekularnych zmian patologicznych w obszarze objętym zawałem w celu późniejszego określenia potencjału pro-regeneracyjnego. Dane pozyskiwane na podstawie analizy genomowej (NGS) dostarczają globalnych informacji o zmianie ekspresji genów zarówno w stanach chorobowych, jak i efektach terapeutycznych.

**Materiały i metody:** W toku analizy wysokoprzepustowych wybrano geny, których ekspresja znacznie zmalała bądź wzrosła w sercach pozawałowych w stosunku do kontroli, a poziom ich ekspresji może wskazywać na stopień żywotności mięśnia sercowego. Szczególnie istotne okazało się skorelowanie wyników uzyskanych z ekspresji genu z parametrami pochodzącymi z obrazowania rezonansem magnetycznym (MRI). Doświadczenia in vivo prowadzono na myszach typu NOD-SCID. Kontrolę stanowiły myszy zdrowe, zaś pozostałe myszy poddano zabiegowi podwiązania lewej tętnicy wieńcowej w celu indukcji zawału serca (MI). Myszy terminowane były 28 dni po zawale. Wyizolowany materiał RNA przygotowano do analizy transkryptomu — RNAseq.

**Wyniki:** Po wykonaniu analizy bioinformatycznej wyselekcjonowano geny związane z przebudową przestrzeni międzykomórkowej oraz ścieżek sygnałowych między kardiomiocytami-fibroblastami (mmp12, timp1). Aktywowane były kompleksy tenascyn (tnc) z innymi dużymi białkami ECM (macierzy zewnątrzkomórkowej), zaś w powiązaniu z kolagenem mogą oddziaływać zarówno z białkami DDR1, DDR2. Wytypowano geny biorące udział w szlaku przepływu wapnia (clstn3), glikolizie (aldob) i czynniki transkrypcyjne (eif2, atf2 i atf5). Wyniki korelowano z obrazem MRI, co w większości potwierdziło, iż wraz z degeneracją lewej komory oraz spadkiem parametrów hemodynamicznych wymienione zestawy genów zakwalifikowano jako markery żywotności mięśnia sercowego.

Praca finansowana przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju, nr grantu PBS3/A7/27/2015.

## SPIS TREŚCI / CONTENTS

PROGRAM SYMPOZJUM	5
<u>MARTA ALEKSANDROWICZ</u> , EWA KOŹNIEWSKA-KOŁODZIEJSKA <i>Differences in the regulation of pial arteries and intracerebral arterioles of the rat in AVP-associated hyponatremia</i> Różnice w regulacji tętnic powierzchniowych i wewnątrzmoźgowych mózgu szczura w warunkach AVP-zależnej hiponatremii	11
<u>MICHAŁ ALEKSIEJCZUK</u> , JOANNA STELMASZEWSKA, ANNA GROMOTOWICZ-POPŁAWSKA, NATALIA MARCIŃCZYK, EWA CHABIELSKA <i>The role of aldosterone in the regulation of microvascular permeability in diabetic rats skin</i> Rola aldosteronu w mechanizmie zmian przepuszczalności naczyń krwionośnych skóry szczura z cukrzycą	12
<u>KALINA ANDRYSIAK</u> , JACEK STĘPNIEWSKI, ŁUKASZ CHROBOK, KATARZYNA PALUS-CHRAMIEC, PAWEŁ FERDEK, MARIAN LEWANDOWSKI, JÓZEF DULAK <i>Human induced pluripotent stem cells-derived cardiomyocytes for studies on the mechanism of cardiomyopathy in Duchenne muscular dystrophy</i> Kardiomiocyty uzyskane z ludzkich indukowanych pluripotencjalnych komórek macierzystych jako model do badania mechanizmów kardiomiopatii w dystrofii mięśniowej Duchenne'a	13
MARTA BANASZKIEWICZ, AGNIESZKA OLEJNIK, <u>ANNA KRZYWONOS-ZAWADZKA</u> , IWONA BIL-LULA <i>Expression of myosin atrial light chains (ALC1) in an adult's ventricle after ischemia and reperfusion</i> Ekspresja przedsionkowych łańcuchów lekkich miozyny (ALC1) w komorze serca osoby dorosłej po niedokrwieniu i reperfuzji	14
<u>ANNA BAR</u> , MARTA TARGOSZ-KORECKA, JOANNA SURAJ-PRAŻMOWSKA, BARTOSZ PRONIEWSKI, AGNIESZKA JASZTAŁ, BRYGIDA MARCZYK, MAGDALENA STERNAK, MAGDALENA PRZYBYŁO, ANNA KURPIŃSKA, MARIA WALCZAK, RENATA KOSTOGRYS, MAREK SZYMOŃSKI, STEFAN CHŁOPICKI <i>Multifactorial phenotype of endothelial dysfunction prior to the development of atherosclerotic plaques in ApoE/LDLR<sup>-/-</sup> mice</i> Wieloczynnikowy fenotyp dysfunkcji śródbłonna wyprzedzający rozwój blaszek miażdżycowych u myszy ApoE/LDLR <sup>-/-</sup>	15
<u>KAROLINA BEDNAROWICZ</u> , KATARZYNA FIEDOROWICZ, ANNA RUGOWSKA, AGNIESZKA ŻIMNA, TOMASZ JAN KOLANOWSKI, NATALIA ROZWADOWSKA, MACIEJ KURPISZ <i>Bioluminescent imaging for monitoring of migration of intracardially implanted human stem cells</i> Obrazowanie bioluminescencji dla monitorowania szlaków migracyjnych implantowanych komórek macierzystych	17

IWONA BIL-LULA, ALEKSANDRA FRAN CZAK, MARTA BANASZKIEWICZ,

ANNA KRZYWONOS-ZAWADZKA

*Protection of the heart against ischemia-reperfusion injury using 5-phenoxyphenyl-5-alkylamino nitrate barbituric acid (FAAKB)*

Ochrona serca przed uszkodzeniem niedokrwienno-reperfuzyjnym przy zastosowaniu 5-fenoksyfenylo-5-alkiloaminoazotanu kwasu barbiturowego (FAAKB) . . . . . 18

AGNIESZKA BIŃCZAK, MONIKA DUDA

*Potential effect of low adiponectin concentration on left ventricular dysfunction in hypothyroid rats*

Potencjalny wpływ niskiego stężenia adiponektyny na upośledzanie funkcji lewej komory serca u szczurów z niedoczynnością tarczycy . . . . . 19

AGATA BRYK, DOMINIK CYSEWSKI, MICHAŁ DADLEZ, ANETTA UNDA

*Identification of glycosylated and acetylated lysine residues in human  $\alpha$ 2-antiplasmin*

Identyfikacja glikowanych i acetylowanych reszt lizynowych w ludzkiej  $\alpha$ 2-antyplazminie . . . . . 20

ALICJA BULIŃSKA, PAULINA MIERZEJEWSKA, MARTA TOMCZYK, IWONA PELIKANT-MAŁECKA,

BARBARA KUTRYB-ZAJĄC, PATRYCJA JABŁOŃSKA, EWA SŁOMIŃSKA, RYSZARD SMOLEŃSKI

*Evaluation of cardiac function in genetic model of atherosclerosis*

Ocena czynności serca w genetycznym modelu miażdżycy . . . . . 21

PIOTR BUSZMAN

*From bench to bedside. The role of preclinical research in cardiology based on examples*

Od pomysłu do wdrożenia. Rola badań eksperymentalnych i przedklinicznych w kardiologii oparta na przykładach . . . . . 22

TOMASZ CIESIELSKI, MAŁGORZATA WOJCIECHOWSKA, KATARZYNA CZARZASTA,

MAGDALENA NIEDZIELA, ANITA TROJANOWSKA, SONIA BORODZICZ,

AGNIESZKA CUDNOCH-JĘDRZEJEWSKA

*Rats in hypothermia experience dramatically decreased area of necrosis assessed in tetrazolium staining during ischemia-reperfusion injury*

Wpływ wewnętrznej temperatury ciała szczura na wielkość zawału serca . . . . . 23

ANNA DROŹDŹ, AGNIESZKA KAMIŃSKA, MAGDALENA SURMAN, AGNIESZKA GONET-SURÓWKA,

ANDRZEJ WRÓBEL, EWA STĘPIEŃ

*Optimization and characterization of low vacuum filtration procedure — novel method for the isolation of endothelial extracellular vesicles*

Optymalizacja i charakterystyka sączenia wspomagane podciśnieniem — nowej metody izolacji mikropełcherzyków zewnątrzkomórkowych . . . . . 24

JÓZEF DULAK

*Cell therapy in heart failure*

Terapie komórkowe w niewydolności serca . . . . . 25

MARTYNA DURAK-KOZICA, ANDRZEJ WRÓBEL, MARK PLATT, RUSH MAUGI, MAGDALENA

SURMAN, MAŁGORZATA PRZYBYŁO<sup>3</sup>, ZBIGNIEW BASTER, ZENON RAJFUR, EWA STĘPIEŃ

*Characteristics and fibrinolytic properties of endothelial microvesicles obtained under hyperglycaemia*

Charakterystyka i właściwości fibrynolityczne mikropełcherzyków pochodzących z śródbłonna otrzymanych w warunkach hiperglikemii . . . . . 26

<u>MAŁGORZATA GAŁDYSZYŃSKA, JACEK DROBNIK</u> <i>α2β1 integrin influence on IL-6 release from cardiac fibroblast cultured on different physical conditions</i> Wpływ integryny α2β1 na regulację uwalniania interleukiny-6 przez fibroblasty serca hodowane na żelach o różnej twardości . . . . .	27
<u>ANNA GROMOTOWICZ-POPŁAWSKA, NATALIA MARCIŃCZYK, MICHAŁ ALEKSIEJCZUK, GLENN MERRILL-SKOLOFF, ROBERT FLAUMENHAFT, JOSE ROMERO, GORDON WILLIAMS, EWA CHABIELSKA</u> <i>Role of striatin in the mechanism of aldosterone prothrombotic action</i> Rola striatyn w mechanizmie prozakrzepowego działania aldosteronu . . . . .	28
<u>MAREK GROSICKI, STEFAN CHŁOPICKI</u> <i>Towards high content imaging of the primary murine coronary endothelial cells to understand pathogenesis of heart failure</i> W kierunku wieloparametrycznego obrazowania pierwotnych mysich komórek śródbłonka naczyń wieńcowych w celu zrozumienia ich roli w patogenezie niewydolności serca . . . . .	29
<u>MATEUSZ JEŻ, ALICJA MARTYNIAK, KALINA ANDRYSIAK, ALAN KANIA, ŁUKASZ CHROBOK, KATARZYNA PALUS-CHRAMIEC, MARIAN LEWANDOWSKI, ALICJA JÓZKOWICZ, JACEK STĘPNIEWSKI, JÓZEF DULAK</u> <i>Role of heme oxygenase-1 and lipid metabolism in maturation and binucleation of cardiomyocytes derived from human induced pluripotent stem cells</i> Rola oksygenazy hemowej-1 oraz metabolizmu lipidów w dojrzewaniu i binukleacji kardiomiocytów otrzymanych z ludzkich indukowanych pluripotencjalnych komórek . . . . .	30
<u>MICHAŁ JURCZYK, ANDRZEJ BORYCZKO, AGATA FURGAŁA, KRZYSZTOF GIL</u> <i>Change in autonomic nervous system reponse to acoustic stimuli — influence of past experience</i> Zmiany w układzie autonomicznym wywołane bodźcami akustycznymi — wpływ uprzednich doświadczeń . . . . .	31
<u>MICHAŁ JURCZYK, PAULINA STACH, KAMIL SKOWRON, KRZYSZTOF GIL</u> <i>Vitamin D modulates fluorouracil induced cardiotoxicity</i> Modulujący wpływ witaminy D na kardiotoksyczne działanie 5-fluorouracylu . . . . .	32
<u>NELI KACHAMAKOVA-TROJANOWSKA, JACEK STĘPNIEWSKI, JÓZEF DULAK</u> <i>Modeling of endothelial (dys)function in maturity onset diabetes of the young using induced pluripotent stem cells</i> Modelowanie dysfunkcji śródbłonka w cukrzycy typu mody za pomocą indukowanych pluripotencjalnych komórek macierzystych . . . . .	33
<u>MATEUSZ KACHEL, MAGDALENA MICHALAK, MARTA KONOPKO, MICHAŁ SOBOTA, JERZY MAŁACHOWSKI, PAWEŁ BUSZMAN, KRZYSZTOF MILEWSKI, PIOTR BUSZMAN</u> <i>Implantation feasibility and early vascular response of a novel PLLA/PLGA bioresorbable scaffold in porcine coronary in-stent restenosis model</i> Przedkliniczna ocena wykonalności implantacji oraz wczesnej odpowiedzi tkankowej nowego rusztowania biodegradowalnego z polimeru PLLA/PLGA w modelu restenozy w stencie . . . . .	34
<u>AGNIESZKA KAMIŃSKA, BARBARA JACHIMSKA, EWA STĘPIEŃ</u> <i>Selected properties of platelet-derived extracellular vesicles as biomarker of cardiovascular risk</i> Wybrane właściwości płytkowych pęcherzyków zewnątrzkomórkowych jako biomarker ryzyka sercowo-naczyniowego . . . . .	35

<p>MONIKA KASZTURA, <u>URSZULA PASŁAWSKA</u>, ALICJA TOMASZEK, ALEKSANDRA TABIŚ, JACEK BANIA,  MACIEJ ZACHARSKI, ROBERT PASŁAWSKI, ADRIAN JANISZEWSKI, PIOTR KUROPKA,  AGNIESZKA NOSZCZYK-NOWAK, PIOTR DZIĘGIEL, LILIANA KICZAK, PIOTR PONIKOWSKI  <i>Changes in hepatic and myocardial iron status in chronic heart failure model of tachycardia-induced  cardiomyopathy in pigs</i>  Zmiany w statusie żelaza w wątrobie i sercu w modelu przewlekłej niewydolności serca  indukowanej tachykardią u świń . . . . .</p>	36
<p><u>AGNIESZKA KIJ</u>, ANNA BAR, BARTOSZ PRONIEWSKI, ŁUKASZ MATEUSZUK, BRYGIDA MARCZYK,  ANNA TWORZYDŁO, CAMILLA ENNGAARD, PERNILLE LAERKEGAARD HANSEN, BOYE JENSEN,  MARIA WALCZAK, STEFAN CHŁOPICKI  <i>The inhibition of thrombin activity improves the function of vascular endothelium  in angiotensin II-induced hypertension in mice</i>  Zahamowanie aktywności trombiny poprawia funkcję śródbłonna naczyniowego w mysim  modelu nadciśnienia tętniczego krwi wywołanego podawaniem angiotensyny II . . . . .</p>	38
<p><u>MAGDALENA KOPYTEK</u>, ALICJA BULIŃSKA, ANETTA UNDA, RYSZARD SMOLEŃSKI,  JOANNA NATORSKA  <i>Effect of glucose on the energy metabolism of Valve Interstitial Cells (VICs)</i>  Wpływ glukozy na metabolizm energetyczny ludzkich komórek interstycjalnych zastawki  aortalnej (VICs) . . . . .</p>	40
<p><u>MICHAŁ KOWARA</u>, MICHAŁ JĘDRZEJEWSKI, KATARZYNA CZARZASTA, AGNIESZKA SEGIEȚ,  ŁUKASZ KOPERSKI, AGNIESZKA CUDNOCH-JĘDRZEJEWSKA  <i>The effect of high cholesterol diet on the expression of biomarkers of myocardial remodeling in the mouse  ApoE model</i>  Wpływ diety wysokocholesterolowej na ekspresję biomarkerów przebudowy mięśnia sercowego  w mysim modelu ApoE . . . . .</p>	41
<p><u>NATALIA MARCIŃCZYK</u>, ANNA GROMOTOWICZ-POPŁAWSKA, MICHAŁ ALEKSIEJCZUK,  MICHAŁ TOMCZYK, EWA CHABIELSKA  <i>The effect of Potentilla erecta extract on hemostasis in type I diabetes in mice</i>  Wpływ ekstraktu z kłącza potentilla erecta na układ hemostazy u myszy z cukrzycą typu I . . . . .</p>	42
<p><u>ALICJA MARTYNIAK</u>, SOLÈNE COSTE, BENJAMIN MOTAIS, JACEK STĘPNIEWSKI, JÓZEF DULAK  <i>The role of miR-378a in maturation of human induced pluripotent stem cells-derived cardiomyocytes</i>  Rola miR-378a w procesie dojrzewania kardiomiocytów otrzymanych przez różnicowanie  indukowanych pluripotencjalnych komórek macierzystych . . . . .</p>	43
<p><u>PAULINA MIERZEJEWSKA</u>, MAGDALENA ZABIELSKA, BARBARA KUTRYB-ZAJĄC,  MARTA TOMCZYK, PATRYCJA KOSZAŁKA, RYSZARD SMOLEŃSKI, EWA SŁOŃSIŃSKA  <i>Endothelial dysfunction in CD73-deficient mice is linked with impaired L-arginine metabolism</i>  Dysfunkcja śródbłonna u myszy CD73-/- jest związana z zaburzeniami metabolizmu L-argininy . . . . .</p>	44
<p><u>KRZYSZTOF MIŃCZUK</u>, JIE LI, JAMES MASSEY, JACK ROY, PAUL SPUMEN, JAMES PATRIE,  ROBERT CAREY, HEINRICH TAEGTMEYER, SUSANNA KELLER, BIJOY KUNDU, BARBARA  MALINOWSKA  <i>Metformin improves metabolic, functional, and structural abnormalities in SHR hearts</i>  Metformina poprawia metabolizm, funkcje i zapobiega zmianom strukturalnym w sercach  szczurów SHR . . . . .</p>	45

<u>TASNIM MOHAISSEN, BARTOSZ PRONIEWSKI, AGNIESZKA KIJ, ANNA BAR, MAGDALENA STERNAK, BRYGIDA MARCZYK, RAQUEL RODRIGUES DÍEZ, ANA BRIONES, STEFAN CHŁOPICKI</u> <i>Development of peripheral endothelial function in murine model of Heart Failure (Tgαq*44)</i> Rozwój obwodowej funkcji śródbłónka w mysim modelu niewydolności mięśnia sercowego (Tgαq*44) . . . . .	47
<u>PAWEŁ MOSKAŁ</u> <i>Novel J-PET technology — perspectives for dynamical imaging of metabolism and tissue pathology</i> Nowa technologia J-PET — perspektywy obrazowania dynamiki metabolizmu i patologii tkanek . . . . .	48
<u>OLGA MUCHA, PAULINA PODKALICKA, KATARZYNA KAZIRÓD, KINGA RUSIN, NELI KACHAMAKOVA-TROJANOWSKA, KALINA ANDRYSIĄK, JACEK STĘPNIEWSKI, JÓZEF DULAK, AGNIESZKA ŁOBODA</u> <i>Dysregulation of angiogenesis in Duchenne muscular dystrophy — studies in mdx mice and human induced pluripotent stem cells differentiated to endothelial cells</i> Zaburzenia angiogenezy w dystrofii mięśniowej Duchenne'a — badania w mysim modelu i z wykorzystaniem ludzkich indukowanych pluripotencjalnych komórek macierzystych różnicowanych do komórek śródbłónka . . . . .	49
<u>ZENON NIECKARZ</u> <i>Inhalation.uj.edu.pl — the usage of university smog detecting system for society and science</i> TymOddycham.uj.edu.pl — wykorzystanie uniwersyteckiej sieci detektorów smogu dla społeczeństwa i nauki . . . . .	50
<u>MAGDALENA NIEDZIELA, MAŁGORZATA WOJCIECHOWSKA, KATARZYNA CZARZASTA, ANITA TROJANOWSKA, SONIA BORODZICZ, TOMASZ CIESIELSKI, AGNIESZKA CUDNOCH-JĘDRZEJEWSKA</u> <i>Tetrazolium staining in myocardial infarction size measurement — methodology</i> Barwienie za pomocą tetrazolium w ocenie wielkości strefy zawału mięśnia sercowego — metodyka . . . . .	51
<u>ŁUKASZ NIEWIARA, BARTŁOMIJ GUZIK, KRZYSZTOF ŻMUDKA, PIOTR SZOLC, ELŻBIETA OSTROWSKA-KAIM, WOJCIECH ZAJDEL, JACEK LEGUTKO</u> <i>Higher baseline heart rate and systolic blood pressure are associated with discrepancy between resting and hyperaemic indices of myocardial ischaemia</i> Podwyższona spoczynkowa akcja serca oraz wysokie skurczowe ciśnienie tętnicze są powiązane z występowaniem niezgodności ocen niedokrwienia przy użyciu indeksów spoczynkowych (RFR) oraz hyperemicznych (FFR) . . . . .	52
<u>MARTA OKNIŃSKA, ALEKSANDRA PATEREK, KLAUDIA BRODACZEWSKA, CLAUDINE KIEDA, MICHAŁ MĄCZEWSKI, URSZULA MACKIEWICZ</u> <i>Oxygen delivery enhancement by myo-inositol tris pyrophosphate (ITPP) for the treatment of cardiovascular diseases. Pilot study on the model of post-infarction heart failure in a rat</i> Nowa strategia leczenia chorób układu sercowo-naczyniowego poprzez zwiększoną podaż tlenu do mięśnia sercowego przy użyciu tris pirofosforanu mioinozytolu (ITPP). Badanie pilotażowe w modelu pozawałowej niewydolności serca u szczura . . . . .	54
<u>ALEKSANDRA PATEREK, MARTA OKNIŃSKA, BARBARA SOCHANOWICZ, MARCIN KRUSZEWSKI, URSZULA MACKIEWICZ, PRZEMYSŁAW LESZEK, MICHAŁ MĄCZEWSKI</u> <i>Prevention of ventricular arrhythmias in severe heart failure obtained with Ivabradine</i> Zapobieganie komorowym zaburzeniom rytmu w ciężkiej niewydolności serca przez iwabradynę . . . . .	55

<u>PATRYK REMISZEWSKI</u> , MAREK TOCZEK, MICHAŁ BIERNACKI, MAGDALENA TIMOSZUK, ANNA JASTRZĄB, BARBARA MALINOWSKA <i>Cannabidiol modifies parameters of oxidative stress in heart and plasma of rats with primary and secondary hypertension</i> Kannabidiol modyfikuje parametry stresu oksydacyjnego w sercu i osoczu szczurów z nadciśnieniem pierwotnym i wtórnym . . . . .	56
KAMIL STEFAŃCZYK, <u>TEODOR BUCHNER</u> , ANNA GROMOTOWICZ-POPŁAWSKA, EWA CHABIELSKA, NATALIA MARCIŃCZYK, MICHAŁ ALEKSIEJCZUK <i>Self-organizing criticality in cloth dynamics in in vivo mice</i> Samooorganizująca się krytykalność w dynamice skrzepu u myszy in vivo . . . . .	57
<u>JACEK STĘPNIIEWSKI</u> , MATEUSZ TOMCZYK, KALINA ANDRYSIAK, IZABELA KRASZEWSKA, ALICJA MARTYNIAK, ALICJA JÓZKOWICZ, AGNIESZKA JAŻWA-KUSIOR, JÓZEF DULAK <i>Induced pluripotent stem cells-derived cardiomyocytes in contrast to adipose-derived stromal cells improve heart function in murine model of myocardial infarction</i> Kardiomiocyty otrzymane z ludzkich indukowanych komórek pluripotencjalnych, w przeciwieństwie do komórek stromalnych izolowanych z tłuszczu, poprawiają funkcję serca po podaniu w mysim modelu zawału mięśnia sercowego . . . . .	58
<u>KATARZYNA SZTORMOWSKA-ACHRANOWICZ</u> , IVAN KOCIĆ <i>The effect of L-arginine and nicotinamide on the right ventricle in male and female rats in experimental pulmonary arterial hypertension</i> Wpływ L-argininy i nikotynamidu na prawą komorę serca u samców i samic szczura w doświadczalnym tętniczym nadciśnieniu płucnym . . . . .	59
MATEUSZ TOMCZYK, IZABELA KRASZEWSKA, NELI KACHAMAKOVA-TROJANOWSKA, JÓZEF DULAK, <u>AGNIESZKA JAŻWA-KUSIOR</u> <i>Excessive infiltration of monocyte-derived macrophages into the cardiac muscle contributes to heart failure progression after myocardial infarction</i> Nadmierny napływ do serca makrofagów pochodzących z monocytów przyczynia się do rozwoju niewydolności mięśnia sercowego po zawale . . . . .	61
<u>ANITA TROJANOWSKA</u> , MAŁGORZATA WOJCIECHOWSKA, KATARZYNA CZARZASTA, MAGDALENA NIEDZIELA, SONIA BORODZICZ, TOMASZ CIESIELSKI, AGNIESZKA CUDNOCH-JĘDRZEJEWSKA <i>ECG changes during myocardial ischemia-reperfusion injury in rats</i> Zmiany w EKG w przebiegu niedokrwienia i reperfuzji mięśnia sercowego u szczurów . . . . .	62
<u>ANETTA UNDAŚ</u> <i>Abnormal structure and function of fibrin: a new risk factor for thromboembolic events</i> Nieprawidłowa budowa i czynność fibryny — nowy czynnik ryzyka powikłań zakrzepowo-zatorowych . . . . .	63
<u>TOMASZ WIERZBA</u> , STANISŁAW ZAJĄCZKOWSKI, ARTUR POLIŃSKI <i>Analysis of functional coherence between big artery compliance and heart rhythm</i> Analiza sprzężenia czynnościowego pomiędzy podatnością dużych tętnic i rytmem serca . . . . .	64
<u>AGNIESZKA ZIMNA</u> , TOMASZ KOLANOWSKI, KAROLINA BEDNAROWICZ, KATARZYNA FIEDOROWICZ, MICHAŁ FIEDOROWICZ, ANNA RUGOWSKA, NATALIA ROZWADOWSKA, MACIEJ KURPISZ <i>Global gene expression in mouse myocardium and its correlation with functional imaging</i> Transkryptomowa analiza ekspresji genów w miokardium myszy i korelacja z obrazowaniem funkcyjnym . . . . .	65