

Bevezetés

A szív-érrendszeri betegségek világszerte a vezető halálokat jelentik az iparilag fejlett országokban. Jelenleg Európában és az Egyesült Államokban a kardiovaszkuláris betegségek az összesség több mint 40%-át teszik ki. Egyes becslések szerint - mivel a populáció öregedésével a kardiovaszkuláris betegségek prevalenciája állandóan növekszik - 2020-ra mind a fejlett, mind a jelenleg fejlődő országokban a vezető halálokat az iszkémiás szívbetegség (ISZB) lesz és a második helyet a cerebrovaszkuláris betegségek foglalják majd el. Az ISZB kezelési költsége (döntően a kórházi költségek miatt) világszerte jelentősen megterheli az egészségügyi kiadásokat. Mindezen adatok nyilvánvalóvá teszik a kardiovaszkuláris betegségek elleni prevenciók stratégiák szükségességét. Az evolúció során a megelőző stratégia a szívizomban is kialakult, hiszen az egészséges szív hatékony, veleszületett endogén stresszadaptációs képességgel rendelkezik, melynek pontos mechanizmusa mindmáig tisztázatlan (Ferdinandy és mtsai., 1998; Baxter és Ferdinandy, 2001). A stresszadaptáció biokémiai részleteinek felfedése új, az adaptációt elősegítő gyógyszerek kifejlesztésének az alapja.

Tudományos háttér

A szív iszkémiás adaptációja

Az iszkémiás prekondicionálás elnevezés a miokardiumnak azt a képességét takarja, amellyel a szív a rövid ideig tartó szubletális iszkémiás stresszhez képes alkalmazkodni oly módon, hogy a következő, potenciálisan károsító iszkémiás periódusokkal szemben rezisztensebbé válik (Murry és mtsai.). A prekondicionálás protektív hatása két fázisban nyilvánul meg: a "klasszikus" prekondicionálás az iszkémiás stressz után percekkel jelentkezik, s három óránál rövidebb ideig tart. A prekondicionálás védőhatásának az úgynevezett második ablakát a lassúbb kezdet jellemzi, és 72 órán át figyelhető meg. A prekondicionálás szívizmot védő hatása az iszkémiás terület kiterjedését (azaz az infarktus területének nagyságát) mérsékli, az iszkémia hatására romló kontraktilis funkciót javítja, s az aritmiák gyakoriságát és súlyosságát csökkenti (Parratt; Lawson; Yellon és Baxter). Érdeklődésre tarthat számot, hogy a prekondicionálásra emlékeztető stresszadaptáció jelensége más szervekben és szövetekben is kimutatható, különösképpen a vázizomban, a

vékonybelekben és az idegszövetben (Lawson). Bár eredetileg laboratóriumi jelenségként írták le, a prekondicionálás emberi szíven is létrehozható, s az emberi iszkémiás szívbetegség során mint természetes jelenség is megfigyelhető (Millar és mtsai.; Kloner és Yellon). A prekondicionálás védőhatásának rendkívül erőteljes volta a celluláris mechanizmusok megismerésére ösztönözte a kutatókat egy új, a prekondicionálás biokémiai folyamatain alapuló gyógyszeres kezelés kifejlesztésének reményében. Igen sok bizonyíték gyűlt már össze arra vonatkozóan, hogy mind a klasszikus, mind a késői típusú prekondicionálást lokális, hormonszerű mediátorok, mint az adenzin, a bradikinin, az opioid peptidek és a katecholaminok váltják ki, amelyek az iszkémiás periódusok alatt szabadulnak fel. Ezt az adaptációs választ elindító triggererek közé sorolják a reaktív oxigén-szabadgyököket is. A triggererek hatására bonyolult jelátviteli rendszerek aktiválódnak, de ezekkel kapcsolatosan sok az ellentmondó adat, különösen a klasszikus prekondicionálás tekintetében. Annyi már bizonyított, hogy a folyamat beindulásához egyes kinázok, mint például a proteinkináz C aktivációja szükséges. Másik feltételezett út szerint a nitrogén-oxid (NO) stimulációja is szükséges. A prekondicionálás védőhatását biztosító effektor anyagok mibenléte még nem ismert; feltételezhető az ATP-szenzitív K^+ -csatorna (KATP), a hő-sokk proteinek és az antioxidáns enzimek szerepe.

ATP-szenzitív K^+ - csatornák (KATP)

KATP csatornákat Noma írta le elsőként kardiomiocitákban, a szakolemmában. Patofiziológiás körülmények között, pl iszkémia hatására a fiziológiás állapotban zárt csatornák az ATP szint csökkenése miatt kinyílnak. A csatorna konduktancia növekedés miatt fokozódik a sejtekben a K^+ veszteség. Az ily módon az akciós potenciál rövidítésével és a hiperpolarizáló hatásával véd a túlzott Ca^{2+} akkumuláció ellen, amely sejthalálhoz vezetne, s a csökkent kontraktilitás rövid távon segíti a sejt ATP tartalmának megőrzését, valamint jelentősen csökkenti a szívizom oxigénigényét. A KATP csatornák nyitásáról bebizonyosodott, hogy a szívben anti-iszkémiás hatással bír (Grover). Az irodalomban mindinkább elfogadottá vált, hogy központi szerepe van az iszkémiás prekondicionálásban, mint az egyik legfontosabb végső effektor (Przyklenk és Kloner, Gross és Fryer). Mindezen kedvező hatások mellett bebizonyosodott, hogy a KATP csatornák nyitása az iszkémiát követő reperfüzió során előnytelen tulajdonságokkal bírnak, hiszen felelőssé tehető a re-

entry típusú aritmiák kialakulásáért, ami a hirtelen szívhalál egyik legfontosabb okozója.

A KATP csatornáknak jelenleg két formája ismeretes: egy szarkolemmális forma az izomsejtek felszínén valamint egy mitokondriális forma, amely a mitokondriumok belső membránján található (Inoue és mtsai., Paucek és mtsai.). Az állatkísérletes eredmények tanúsága szerint a mitokondriumok membránjában elhelyezkedő ATP-függő K^+ -csatorna (mitoKATP) aktiválása a prekondíció meghatározó eleme (Ferdinandy 2007), ezért a mitoKATP csatorna ígéretes gyógyszer-célpont az iszkémiás betegségek terápiájában.

A prekondicionálás celluláris alapjaival foglalkozó nagyszámú tanulmány között kevés olyan munka található, amely az emberi coronariabetegséghez hasonlíthatóan károsodott állati szíveken készült. Sok klinikai tanulmány foglalkozik azokkal az állapotokkal, amelyek a myocardialis infarctus mortalitását növelhetik, így a hypercholesterinaemiával, hypertoniával, krónikus szívelégtelenséggel, a diabetes mellitussal, a magas életkorral, az orális antidiabetikumok szedésével, valamint a nitráttolerancia kifejlődésével (Kannel és McGee; Roberts). Feltételezhető, hogy ezek a kóros állapotok megváltoztathatják a szívizom ischaemiás stresszadaptációjának alapjául szolgáló biokémiai folyamatokat, és ezáltal fokozhatják az iszkémiás szívbetegség mortalitását

Hiperlipidémia, hiperkoleszteinémia

A hiperlipidémia és különös tekintettel a hiperkoleszterinémia jól ismert rizikófaktorai az iszkémiás szívbetegségek ezen belül az miokardiális infarktus kialakulásának. Epidemiológiai vizsgálatok szoros összefüggést mutattak ki a szérum totál koleszterin szint és a miokardiális morbiditás és mortalitás között. Az utóbbi évtizedben a tudományos érdeklődés ezért a hiperlipidémiás állapotok az iszkémiás adaptáció és ezek biokémiai mechanizmusainak felderítése felé fordult. Az intenzív kutatások ellenére továbbra is kutatás tárgya, hogy a kísérletes hiperlipidémia milyen módon befolyásolja a kardioprotekció sejtszintű mechanizmusait.

Az emberi iszkémiás szívbetegség komplex kórfolyamat, amelyhez az iszkémiától függetlenül egyéb szisztémás betegség, mint például hiperlipidémia, hipertónia és diabetes mellitus is társulhat, s ezek (az iszkémiától függetlenül) különféle módon befolyásolják a miokardium működését. Megfigyelték, hogy a koronariabetegségben

szenvedők közül azoknak rosszabb a prognózisa, akik gyakori iszkémiás epizóddal reagálnak akár a fizikai (Kent és mtsai.), akár a szellemi stresszre (Jain és mtsai.). Ez a prekondicionálhatóság károsodására utalhat. A legtöbb ez irányú kísérletet eddig olyan állatokon végezték, ahol az iszkémiás prekondicionálást más kísérő betegség hiányában váltották ki, így ezen kísérletek klinikai relevanciája csekély. Korábbi kísérleteinek eredményei rámutattak arra, hogy éppen az iszkémiás szívbetegségre leghajlamosabb rizikócsoporthoz modellező hiperlipidémiás állatokban az endogén iszkémiás tolerancia kialakulása károsodott, de ennek a pontos mechanizmusa mindmáig tisztázatlan (Ferdinandy és mtsai, 1997; Ferdinandy és mtsai 1988, Ferdinandy és mtsai 2003).

Cél

A K_{ATP} csatornák – mint a szívizom iszkémiás adaptációjában szereplő végső effektorok - fontos szerepet játszanak az iszkémiás prekondicionálás hatásmechanizmusában. Jól ismert, hogy az iszkémiás szívbetegségek legfontosabb rizikófaktorának tartott hiperkoleszterinémiás állatmodellekben az iszkémiás adaptáció elvész. Ez a jelenség valószínűleg összefüggésbe hozható a szív K_{ATP} csatornáinak megváltozott működésével. A projekt célja a K_{ATP} csatornák vizsgálata volt hiperlipidémiás patkánymodellen.

Módszerek

Állatok, és a hiperlipidémia állatkísérletes előidézése

Kísérleteinkhez 350-400 g-os hím Wistar patkányokat használtunk. Az állatokat 2% koleszterinnel dúsított táppal etettük *ad libitum* a hiperkoleszterinémia kifejlődése érdekében 12 héten keresztül.

Kísérleteinkhez *ex vivo* izolált szívperfúziós rendszert használtunk. Ebben az elrendezésben egyrészt a szív izolációja miatt a hiperlipidémia perifériás érrendszerre kifejtett hatásait mellőzve izoláltan vizsgálhatók a szívhatások. Másrészt a patkány az intenzív koleszterinben gazdag diéta ellenére csak kismértékű koleszterinszint emelkedéssel reagál, plakképződésre nem hajlamos. Így a koleszterinszint emelkedésből származó érhatásoktól (pl koszorúerekben történő

plakképződés miatti csökkent vérellátás) el lehet tekinteni, és a koleszterinetetés direkt szívhatásai vizsgálhatók.

Bár a koleszterinetetés bizonyos direkt szívhatásai már 3 napos kezelést követően is megfigyelhetők, az irodalom szerint legalább 8 hetes 2%-os koleszterindús diéta szükséges a hiperlipidémiás állatmodell kialakításához. Munkacsoportunk korábbi tanulmányok alapján 12 hetes kezelést alkalmazott.

Perfúziós technikák

Dietil-éteres altatást követően a szíveket a mellkas felnyitásával kimetszettük és azonnal 4 °C-os Krebs Henseleit oldatba helyeztük. Ezután az aortacsonkot kanüláltuk és 37 °C-on 100 vízcm-es nyomással retrográd módon Langendorff szerint perfundáltuk a szíveket. Ezt követően a bal pitvart is megkanüláltuk és bal pitvari perfúziót végeztünk Neely szerint (Neely és mtsai., 1967). Ebben az elrendezésben az oxigenizált Krebs-Henseleit oldat 17 vízcm-es nyomással áramlik a vénás rezervoárból a bal pitvari kanülön keresztül a bal pitvarba, majd a bal kamrába, ahonnan a szív saját munkája juttatta 100 vízcm-es nyomás ellenében a mesterséges tüdőbe, majd egy szűrőn keresztül vissza a vénás rezervoárba. A bal kamrába vezetett nyomásmérő katéter és az aortába bekötött áramlásmérő segítségével az alábbi paraméterek folyamatos monitorozására nyílt lehetőség: szívfrekvencia, aorta átáramlás, koronária átáramlás, perctérfogat, bal kamrában kifejlődő nyomás, ennek idő szeinti deriváltjának maximális és minimális értéke, bal kamrai végdiasztolés nyomás (Csonka és mtsai., 1999). A KATP csatorna blokkoló és aktiváló gyógyszereket (glibenclamide, cromakalim, 5-hidroxi-dekanoát, diazoxid) a megfelelő koncentrációkban közvetlenül a perfúziós folyadékban oldva alkalmaztuk (Csonka és mtsai. 2003).

Infarktus méret meghatározás

Az izolált szíveket 30 perc iszkémiának tesszük ki, majd két órás reperfúziót követően az iszkémiás terület nagyságát trifenil-tetrazólium-kloridos inkubáció után (1%, 10 perc) hatásozzuk meg planimetriás program (InfarcSize™ 1.0) segítségével. Az elhalt szövetek nem festődnek, míg az élő szövetek vörösre színeződnek (Baxter és Yellon, 1999).

Laktát dehidrogenáz (LDH) enzimaktivitás meghatározása

A szívizom károsodását jelző LDH enzimaktivitást gyári kit (Diagnosztikum) segítségével UV fotometriás úton mértük.

ATP, kreatin foszfát, laktát és glikogén szint mérések

Röviden: 3-5 mg fagyasztva szárított szívizom szövetmintát 0,5 M perklórsavban hidrolizáltunk, centrifugáltunk és a felülúszót használtuk a további kísérletekhez.

Az ATP és kreatin-foszfát mennyiségét a kreatin kináz, hexokináz és gükóz-6-foszfát dehidrogenáz által katalizált biokémiai reakció segítségével mértük. Az ATP és kreatin-foszfát mennyiségét a reakciókban keletkező NADPH mennyiségéből számítottuk. A miokardiális tejsav mennyiségét a laktát dehidrogenáz enzim által katalizált reakcióból, a NADH mennyiségének változásából számoltuk.

A glikogén mennyiségének méréséhez a mintákat először tömény HCl-dal 100 °C-on hidrolizáltuk, majd hexokináz és gükóz-6-foszfát dehidrogenáz enzimekkel reagáltattuk a felülúszót. A minta glikogén tartalmát szintén a keletkező NADPH mennyiségéből számítottuk.

QPCR vizsgálatok

A QPCR vizsgálatokat kooperációban a Szegedi Biológiai Kutatóközpont Genomikai laborjában, Puskás László irányítása mellett végeztük. A szívekből 100-150 mg mennyiséget folyékony nitrogénben lefagyasztottunk, majd totál RNS-t preparáltunk. A QPCR vizsgálatokat a gén expresszió kifejeződésére RotorGene 3000 készüléken végeztük, (Corbett Research, Sydney, Australia) gén-specifikus primerekkel mind SybrGreen protokollal, mind Universal Probe Library kettős jelölésű Roche (Roche Applied Science, Mannheim, Germany) próbákkal.

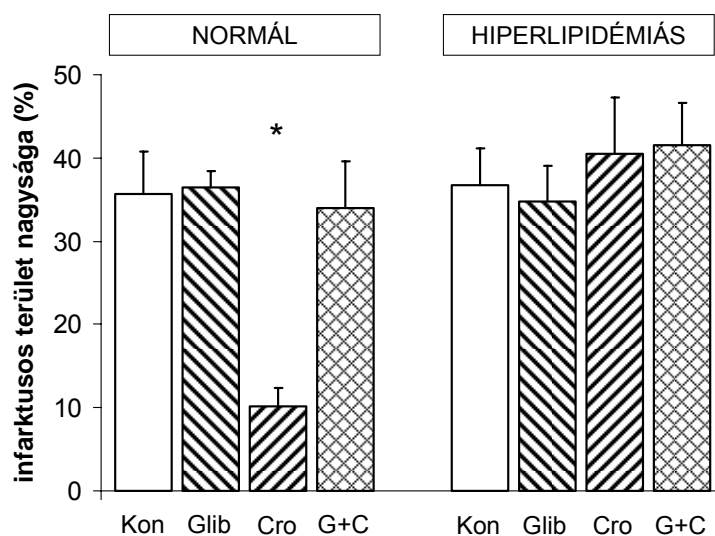
Eredmények és konklúzió:

A normál ill. koleszterindús tápon nevelt állatokból származó szíveket szívfunkciós paramétereit az alábbi táblázat szemlélteti:

	HR	CF	AF	LVDP	+dP/dt	-dP/dt	LVEDP
normál	272±7	23±0.5	43.9±2	18.4±0.4	842±46	458±32	0.51±0.05
koleszterin	271±8	22±0.5	45.2±1.2	18.9±0.5	940±45	481±42	0.86±0.05*

HR: szívfrekvencia, CF: koronária átáramlás, AF: aorta átáramlás, LVDP: bal kamrai nyomás, +/- dP/dt: LVDP idő szerint deriváltja, LVEDP: bal kamrai végdiasztolés nyomás

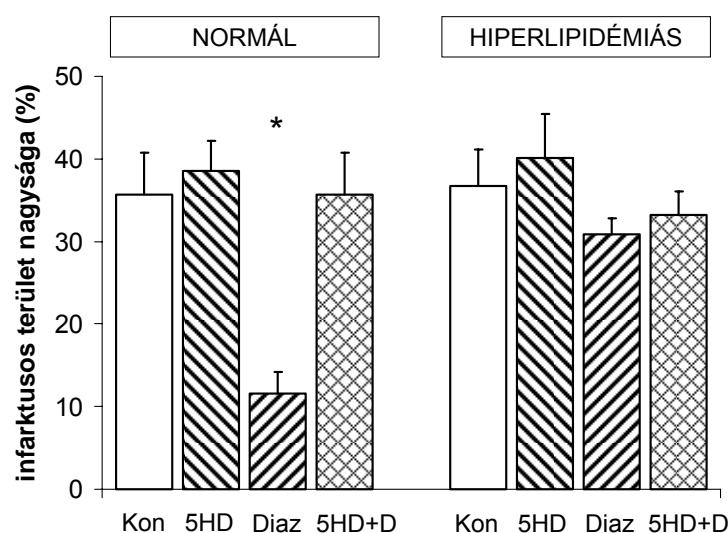
A normál ill. koleszterindús tápon nevelt állatokból származó szíveket az izolálás után 30 perc iszkémiának és 120 perc reperfúzióknak tettük ki. A kísérletek első felében a perfúziós oldat nemszelektív KATP blokkoló glibenclamidot (10^{-7} M végső koncentrációban), nemszelektív KATP nyitó cromakalimot (10^{-5} M végső koncentrációban), valamint ezek kombinációját tartalmazta. Kísérleteink során a szívizomzat egyik legfontosabb paraméterét, a kifejlődő infarktusos terület nagyságát mértük 30 perces iszkémiát követően a reperfúzió 120. percében. A normál és hiperkolesztrinémiás állatokból szíveiben harminc perc teszt iszkémiát követően a nemszelektív KATP nyitó cromakalim szignifikánsan csökkentette az elhalt terület nagyságát ($35,7 \pm 5,1\%$ -ról $10,1 \pm 2,3\%$ -ra) a kezeletlen kontrollhoz képest, amely hatás kivédhető volt nemszelektív KATP blokkoló glibenklamiddal ($36,4 \pm 2\%$). A cromakalim jótékony hatása nem volt megfigyelhető hiperkoleszterinémiás állatokban ($36,7 \pm 4,5$; $40,5 \pm 6,8$ ill. $34,8 \pm 4,2\%$).



1. ábra Infarktusos terület nagysága a rizikónak kitett terület %-ban nem szelektív KATP módosítók jelenlétében. Kon: kontroll, Glib: glibenclamid (10^{-7} M), Cro: Cromakalim (10^{-5} M), G+C: glibenclamid és cromakalim kombinációja. * $p < 0,05$

Eredményeink azt mutatják, hogy szívizom stresszadaptációja nemszelektív KATP csatorna aktivátorokkal kiváltható. Az aktivátorok ezen jótékony hatása hiperkoleszterinémiás állatokban nem figyelhető meg, ami lapján feltételezhető hiperkoleszterinémiában a KATP csatornák diszfunkciója. A normál tápon tartott állatok szíveiben a KATP csatorna aktiváció kardioprotektívnek bizonyult. A

nemszelektív KATP nyitó szerek alkalmazásával mind a szarkolemmális, mind a mitokondriális csatornákat aktiváltuk. A szarkolemmális KATP csatornák nyitása az akciós potenciál rövidítésén keresztül csökkenti a szívizomsejtbe áramló Ca^{2+} mennyiségét, ezáltal a kontraktilitás csökkentésén keresztül végül csökkenti a szív O_2 igényét. A mitokondrium membránjában található KATP nyitás a szarkolemmális formához hasonlóan szintén kardioprotektív, ezek a csatornák fontos szerepet játszanak a szív belső endogén adaptációs mechanizmusának a kiváltásában. Hiperkoleszterinémiában egyik fajta KATP aktivációja sem tudott kardioprotektív hatást kifejteni. Ezért, hogy megvizsgáljuk, hogy a KATP melyik fajtája felelős a kardioprotektív hatásért, a projekt következő fázisában a perfúziós oldatba mitokondriumban található KATP-re ható szelektív blokkoló 5-hidroxi dekanóátot (5-HD; 10^{-5} M végkoncentrációban) és szelektív KATP nyitó diazoxidot (3×10^{-5} M végkoncentrációban), valamint ezek kombinációját tettük. A normál állatokból szíveiben harminc perc teszt iszkémiát követően a szelektív mitoKATP nyitó diazoxid szintén szignifikánsan csökkentette az elhalt terület nagyságát ($35,7 \pm 5,1\%$ -ról $11,6 \pm 2,6\%$ -ra) a kezeletlen kontrollhoz képest, amely hatás kivédhető volt 5-HD-tal ($38,5 \pm 3,7\%$). A KATP nyitásának infarktus területet csökkentő jótékony hatása nem volt megfigyelhető magas koleszterint tartalmazó diétával etetett állatokban ($36,7 \pm 4,5$; $30,8 \pm 2,0$; ill. $40,1 \pm 5,4\%$).

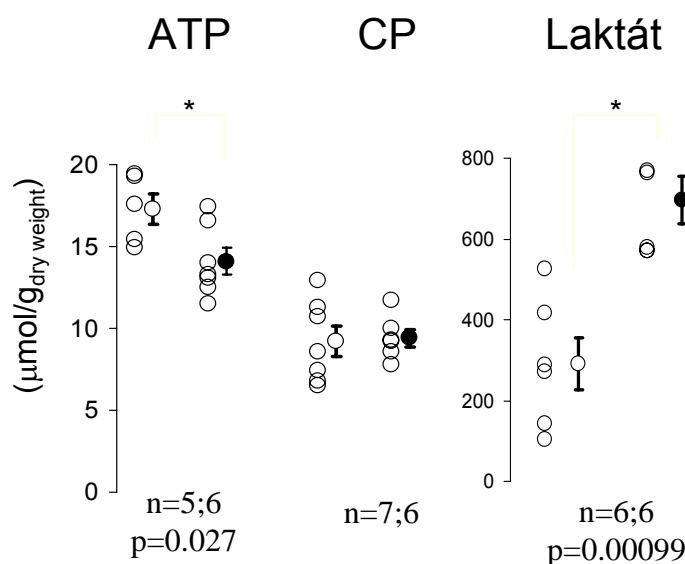


2. ábra Infarktusos terület nagysága a rizikónak kitett terület %-ban mitokondriális szelektív KATP módosítók jelenlétében. Kon: kontroll, 5HD: 5-hidroxi dekanóát (10^{-5} M), Diaz: diazoxid (3×10^{-5} M), 5HD+D: 5-hidroxi dekanóát és diazoxid kombinációja. * $p < 0,05$

Ezzel egybevágó eredményeket találtunk a szívizomkárosodást jelző LDH enzim kiszabadulás tekintetében is. Eredmények azt mutatják, hogy szívizom stresszadaptációja mitokondriális szelektív KATP csatorna aktivátorokkal kiváltható. Az aktivátorok ezen jótékony hatása hiperkoleszterinémias állatokban nem figyelhető meg, ami szerint hiperkoleszterinemiában a mitokondriális KATP csatornák működése is károsodott.

A pályázat harmadik részében QPCR módszer segítségével célzottan vizsgáltunk néhány, közvetlenül a KATP-hez ill annak működéséhez köthető gén expresszióját. Eredményeink szerint a koleszterin dús diéta hatására a KATP-t felépítő fehérje alegységek (Kir 6.1 és Kir 6.2) expressziója nem mutatott csökkenést. Ez arra enged következtetni, hogy hiperlipidémias állatokban nem a csökkent KATP expresszió, hanem valamilyen más ok vezet a csatornafunkció elvesztéséhez. Ezt megerősítették korábbi eredményeink is, ahol ugyancsak hiperkoleszterines táppal etetett állatokból DNS csip technikával sem találtunk KATP fehérje expressziós eltéréseket. Az ATP termelődéséért felelős ATP szintáz expressziója sem mutatott csökkenést a hiperlipidémias szívekben a normál szívekhez képest.

A miokardium ATP és laktát tartalmát vizsgálva megállapítottuk, hogy a koleszterindús diéta jelentősen csökkentette a szívek ATP tartalmát és növelte a laktát mennyiségét.



3. ábra Normál (üres karikák) és 2%-ban koleszterinnel dúsított táppal etetett (tömör karikák) patkányok szíveinek ATP, kreatin foszfát (CP) és laktát tartalma. *p<0,05

Ez azt mutatja, hogy hiperlipidémiás sejtekben zavart szenved az oxidatív energiatermelés. A szívizomsejt normál állapotban 60-80%-ban zsírsavak oxidációjával fedezi energiaszükségletét. Az iszkémia enyhébb stádiumaiban viszont egyértelműen fokozódik a glükózfelvétel és a glükolízis sebessége is gyorsul. Több ATP (energia) termelődik, így a miocita ellenállóbb lesz a kialakuló iszkémiás állapottal szemben. Súlyos miokardiális iszkémia drasztikusan alakítja át az energiatermelés folyamatát. Az aerob glükóz oxidáció helyett anaerob glikolízis, laktáttermelés, pH csökkenés alakul ki, ám hosszútávon a glükózraktárak gyors ürülése és a felhalmozódó metabolitok miatt ez a folyamat is leáll. Az oxidatív foszforiláció károsodásával az ATP termelődés is csökken, majd leáll. Az iszkémiát követő reperfúzió alatt a posztiszkémiás mechanikai funkció helyreállításának gyorsasága attól függ, hogy milyen hamar tér vissza a normális szintre a domináns zsírsav oxidáció mellett a glükóz oxidáció és mikor stabilizálódik az ATP termelés. Jelen eredményeinket, mely szerint a hiperlipidémiás szívekben az energiatermelés jelentősen csökken, jól alátámasztják korábbi megfigyeléseink, melyben DNS chip technikával vizsgáltuk a hiperlipidémiás szívek gén expresszióját (Puskás és mtsai). Abban a tanulmányban a DNS csip számos, az ATP termelésben részt vevő fehérje csökkent expresszióját mutatta a koleszterindús diéta eredményeképp, úgy mint a glikolízisben szereplő enoláz, a terminális oxidációban résztvevő NADH-ubiquinon oxidoreduktáz és NADH dehidrogenáz vagy a mitokondriális citokróm b, és az oxidatív foszforilációért felelős ATP szintáz c alegység.

Eredményeinket összefoglalva tehát elmondható, hogy hiperlipidémiában a kardioprotektív hatású KATP-k azért nem tudnak hatást kifejteni, mert a hiperlipidémiás szívek ATP termelő kapacitása jelentősen csökkent a normál tápon tartott állatokkal összehasonlítva. Ez a csökkent ATP szint már feltehetően aktiválja a KATP-t, így az iszkémia/reperfúzió során adott KATP aktivátorok védőhatást már nem képesek kifejteni. Hiperlipidémiában ezért az energiatermelés helyreállításával lehetne fokozni a szívizom iszkémiás/reperfúziós károsodással szembeni adaptációs képességét.

Közlemények

Az OTKA honlapján felsorolt közleményeken túl az eredményeinket összefoglaló publikáció írása folyamatban van, amit külföldi tudományos folyóiratban kívánunk közzé tenni. Ezért az OTKA bázisában szerepeltetni nem jelenleg nem tudom, viszont a

cikk megjelenésekor mindenképpen szeretném csatolni jelen jelentéshez, Kérem, hogy a jelentésben foglaltak és a csatolt közleménylista alapján született minősítést az OTKA kiegészítő eljárásban később módosítsa, figyelembe véve a megjelent közleményeket.

Személyi feltételek

A projektben az eretei pályázatban foglaltakhoz képest személyi változások nem történtek. A Szegedi Tudományegyetem Orvos- és Gyógyszerésztudományi Centrum Általános Orvostudományi Kar Biokémiai Intézetének Kardiovaszkuláris Kutatócsoportjában a utánpótlásnevelésének folytonossága érdekében a kísérletek kivitelezésébe 2 fő tudományos diákkörös orvos- ill gyógyszerésztudományi hallgatót vontunk be a terveinknek megfelelően. Fekete Veronika és Kupai Krisztina a pályázat indulásakor, még mint Tudományos Diákköri hallgatók, tudományos karrierjüket diplomájuk megszerzése után PhD ösztöndíjasként képzelték el. A pályázat lejártával a fent említett kutatóhely munkájában már mint másod- ill. harmadéves PhD hallgatók vesznek részt.

Referenciák:

Baxter GF, Ferdinandy P. Delayed preconditioning of myocardium: current perspectives. *Basic Res Cardiol* 2001;96:329-44

Baxter GF, Yellon DM. ATP-sensitive K⁺ channels mediate the delayed cardioprotective effect of adenosine A1 receptor activation. *J Mol Cell Cardiol*. 1999 31:981-9.

Csonka C, Ónody A, Csont T, Ferdinandy P. The defibrillatory action of glibenclamide is independent from ATP-sensitive K⁺-channels and free radicals. *J Cardiovasc Pharmacol* 2003;41:916-922

Csonka C, Szilvassy Z, Fulop F, Pali T, Blasig IE, Tosaki A, Schulz R, Ferdinandy P. Classic preconditioning decreases the harmful accumulation of nitric oxide during ischemia and reperfusion in rat hearts. *Circulation* 1999;100:2260-2266

Ferdinandy P, Csont T, Csonka C, és mtsai. Capsaicin-sensitive local sensory innervation is involved in pacing-induced preconditioning in rat hearts: role of nitric oxide and CGRP? *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1997;356:356-63.

Ferdinandy P, Daniel H, Ambrus I, Rothery RA, Schulz R. Peroxynitrite is a major contributor to cytokine-induced myocardial contractile failure in rat hearts. *Circ Res* 2000;87:241-247

Ferdinandy P, Schulz R, Baxter GF. Interaction of cardiovascular risk factors with myocardial ischemia/reperfusion injury, preconditioning, and postconditioning. *Pharmacol Rev.* 2007 ;59(4):418-58.

Ferdinandy P, Szilvassy Z, Baxter GF. Adaptation to myocardial stress in disease states: is preconditioning a healthy heart phenomenon? *Trends Pharmacol Sci* 1998;19:223-9

Ferdinandy P, Szilvassy Z, Horvath LI, Csont T, Csonka C, Nagy E, Szentgyorgyi R, Nagy I, Koltai M, Dux L. Loss of pacing-induced preconditioning in rat hearts: role of nitric oxide and cholesterol-enriched diet. *J Mol Cell Cardiol* 1997;29:3321-33

Ferdinandy P. Myocardial ischemia/reperfusion injury and preconditioning: effects of hypercholesterolemia/hyperlipidemia. *Br J Pharmacol* 138: 283-285 (2003)

Gross GJ and Fryer RM. Sarcolemmal versus mitochondrial ATP-sensitive K⁺ channels and myocardial preconditioning. *Circ Res* 1999;84:973-9.

Grover GJ. Pharmacology of ATP-sensitive potassium channel (K_{ATP}) openers in models of myocardial ischemia and reperfusion. *Can J Physiol Pharmacol* 1997;75:309-15.

Inoue I, Nagase H, Kishi K, és mtsai. ATP-sensitive K⁺ channel in the

mitochondrial inner membrane. *Nature* 1991;352:244- 7.

Jain D, Burg M, Soufer R, Zaret BL. Prognostic implications of mental stress-induced silent left ventricular dysfunction in patients with stable angina pectoris. *Am J Cardiol* 1995;76:31-5.

Kannel WB, McGee DL. Diabetes and cardiovascular disease: the Framingham study. *J Am Med Assoc* 1979;241:2035-8.

Kent KM, Rosing DR, Ewels CJ, et al. Prognosis of asymptomatic or mildly symptomatic patients with coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1982;49:1823-30.

Kloner RA, Yellon DM. Does ischaemic preconditioning occur in patients? *J Am Coll Cardiol* 1994;24:1133-42.

Lawson CS. Preconditioning in man: Progress and prospects. *J Mol Cell Cardiol* 1995;27:961-7.

Millar CGM, Baxter GF, Thiemermann C. Protection of the myocardium by ischaemic preconditioning: Mechanisms and therapeutic implications. *Pharmacol Ther* 1996;69:143-51.

Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischaemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 1986;74:1124-36.

Neely JR, Liebermeister H, Battersby EJ, Morgan HE. Effect of pressure development on oxygen consumption by isolated rat heart. *Am J Physiol*. 1967;212:804-14.

Noma A. ATP-regulated K⁺ channels in cardiac muscle. *Nature* 1983;305:147-8.

Ónody A, Csonka C, Giricz Z, Ferdinandy P. Hyperlipidemia induced by cholesterol-rich diet leads to enhanced peroxynitrite formation in rat hearts. *Cardiovasc Res* 2003;58:663-670

Parratt JR. Possibilities for the pharmacological exploitation of ischaemic preconditioning. *J Mol Cell Cardiol* 1995;27:991-1000.

Paucek P, Mironova G, Mahdi F, és mtsai. Reconstitution and partial purification of the glibenclamide-sensitive, ATP-dependent K⁺ channel from rat liver and beef heart mitochondria. *J Biol Chem* 1992;267:26062-9.

Puskás LG, Nagy ZB, Giricz Z, Onody A, Csonka C, Kitajka K, Hackler L Jr, Zvara A, Ferdinandy P. Cholesterol diet-induced hyperlipidemia influences gene expression pattern of rat hearts: a DNA microarray study. *FEBS Lett*. 2004 ;562(1-3):99-104.

Przyklenk K and Kloner RA. Ischemic preconditioning: exploring the paradox. *Prog Cardiovasc Dis* 1998;40:517-47.

Roberts WC. Preventing and arresting coronary atherosclerosis. *Am Heart J* 1995;130:580-600.

Wallenstein S, Zucker CL, Fleiss JL. Some statistical methods useful in circulation research. *Circ Res*. 1980 Jul;47(1):1-9.

Yellon DM, Baxter GF. A "second window of protection" or delayed preconditioning phenomenon: future horizons for myocardial protection? *J Mol Cell Cardiol* 1995;27:1023-34.