

Bartha Éva, Magyar Klára, Solti Izabella, Kovács Krisztina, Hideg Kálmán, Sümegi Balázs, Halmosi Róbert, Tóth Kálmán

Szerzők neve

Pécsi Tudományegyetem-OEKK, I.sz. Belgyógyászati Klinika, Pécsi Tudományegyetem-ÁOK, Biokémiai és Orvosi Kémiai Intézet, Pécsi Tudományegyetem-ÁOK, Patológiai Intézet, Pécsi Tudományegyetem-ÁOK, Szerves és Gyógyszerkémiai Intézet

Cím (magyar)

Poli(ADP-ribóz)polimeráz enzim gátlásának hatása fiatal spontán hipertenzív patkány szívekre

Cím (angol)

Effect of L-2286, a poly(ADP-ribose)polymerase inhibitor on young spontaneously hypertensive rat (SHR) hearts

Téma

Experimentális kardiológia (9)

Kulcsszavak

PARP inhibition, intracellular signaling, left ventricular hypertrophy, echocardiography

Típus

ifj. Előadás (10 perc + 5 perc vita)

Absztrakt (magyar)

A spontán hipertenzív patkány (SHR) alkalmas modell a magas vérnyomás és a következményes balkamra hypertrophia tanulmányozására. A poli(ADP-ribóz)polimeráz (PARP) enzim aktivációja fontos szerepet tölt be a postinfarctusos myocardium remodeling kialakulásában. Jelen vizsgálatunkban egy quinazolin típusú PARP-gátlónak (L-2286) a hypertoniás cardiopathia kialakulásával szembeni védő hatását kívántuk meghatározni SHR patkányokban. 6 hetes hím SHR patkányokat L-2286-tal kezeltünk (5 mg/ttkg/d, p. os, n=9, SHR-L), vagy placebót kaptak (n=8, SHR-C) 26 hétig. 6 hetes hím CFY Sprague-Dawley patkányokat használtunk kortárs egészséges kontrollként (n=7, CFY). A kísérlet előtt és a 26 hét végén szívlutrahangos vizsgálatot (Vevo 770, VisualSonics) végeztünk, illetve a vizsgálat végén meghatároztuk a plazma BNP szinteket. A fibrózis összehasonlítása céljából a szívizom metszeteket haematoxylin-eosinnal festettük meg. Az Akt-1, GSK-3 β , MAPK, PKC jelátviteli utak aktivációját Western-blottal vizsgáltuk. A kollagén lerakódás mértéke és a plazma BNP szintek szignifikánsan emelkedtek (p<0,05) az SHR-L és SHR-C csoportokban a CFY csoporthoz képest. Ezekben a paraméterekben javuló tendenciát észleltünk az L-2286 kezelés hatására, azonban ez a változás nem volt szignifikáns. Az L-2286 kezelés az ERK 1/2 aktivációját növelte (p<0,05), de a JNK, p-38-MAPK aktivációját nem befolyásolta. Az Akt-1, GSK-3 β és PKC ϵ foszforilációját növelte (p<0,01), míg a PKC α/β , ζ aktivációját csökkentette (p<0,05 vs. SHR-C) az L-2286. Echocardiographiás vizsgálattal az ejekciós frakció és a frakcionális rövidülés nem különbözött szignifikánsan a 3 csoport között, a bal kamrai végdiasztolés és végszisztolés térfogat azonban szignifikánsan nagyobb volt (p<0,05 SHR-L és SHR-C vs. CFY). A balkamrai falvastagság (hátsó fal és septum) és balkamra tömeg szignifikánsabb nagyobb volt az SHR csoportokban a CFY csoporthoz képest. A két SHR csoport (SHR-L és SHR-C) közül azonban az L-2286 kezelésben részesülő csoportban (SHR-L) szignifikánsan alacsonyabbak voltak ezen paraméterek (p<0,05). Az SHR patkányokban szívizom hypertrophia jeleit észleltük. Eredményeink alapján elmondható, hogy az L-2286-tal végzett PARP-gátlás kedvezően hat a fiatal SHR patkányokban a balkamra hypertrophia kialakulásával szemben.

Absztrakt (angol)

Spontaneously hypertensive rat (SHR) is a suitable model for studies of hypertension and consequential left ventricular (LV) hypertrophy. It is known, that activation of poly(ADP-ribose)polymerase enzyme (PARP) plays an important role in the development of postinfarction myocardial remodeling. In this study we examined the protective effect of a quinazoline-type PARP inhibitor (L-2286) on the development of hypertensive cardiopathy in SHR. 6-week-old SHR male rats were treated with L-2286 (5 mg/b.w. in kg/d, n=9, SHR-L) or placebo (n=8, SHR-C) p. os for 26 weeks. 6-week-old male CFY Sprague-Dawley rats were used as aged-matched, normotensive controls (n=7, CFY). Before treatment and at the end of the 26 week period echocardiography was performed (Vevo 770, VisualSonics) and at the end of the study plasma BNP activity was determined. To detect the extent of fibrotic areas, histologic samples were stained with hematoxylin-eosin. The phosphorylation state of Akt-1, GSK-3 β , MAPK and PKC cascades were monitored by Western blotting. Deposition of collagen and activity of plasma BNP (p<0.05) were significantly elevated in SHR-L and SHR-C groups compared to the CFY group. These parameters showed improving tendencies due to L-2286 treatment, but these changes were not statistically significant. The activation of ERK 1/2 was increased (p<0.05), while JNK and p38-MAPK were not altered significantly (p>0.05) by L-2286 treatment. The phosphorylation of Akt-1, GSK-3 β and PKC ϵ were increased significantly (p<0.01), while the activity of PKC α/β , ζ were mitigated (p<0.05 vs. SHR-C) by L-2286 administration. Echocardiographic measurements showed that ejection fraction and fractional shortening did not differ significantly among the three groups, while LV end-diastolic and end-systolic volumes increased significantly (p<0.05 SHR-L and SHR-C vs CFY). The thickness of the LV wall (posterior wall and septum) and the mass of LVs were significantly increased in SHRs (p<0.05 vs CFY). These parameters could be significantly decreased (p<0.05) by L-2286 treatment in SHR-L compared to SHR-C group. In conclusion, we could detect the signs of LV hypertrophy in SHR group. Our results suggest that PARP inhibition with L-2286 treatment can have beneficial effect on the development of left ventricular hypertrophy in young SHRs.

Sorszám

23. ifj.

Szerzők neve

Borbély Attila, Loek van Heerebeek, Nazha Hamdani, René Musters, Jolanda van der Velden, Ger J.M. Stienen, Papp Zoltán, Édes István, Walter J. Paulus
Debreceni Egyetem, Orvos és Egészségtudományi Centrum, Kardiológiai Intézet, Laboratory for Physiology, Institute for Cardiovascular Research, VU Medical Center, Amsterdam, The Netherlands, Debreceni Egyetem, Orvos és Egészségtudományi Centrum, Kardiológiai Intézet

Cím (magyar)

Diasztolés diszfunkció diabéteszes cardiomyopathiában: a fibrózis, a glikációs végtermékek és a passzív szívizomsejt-feszülés szerepe

Cím (angol)

Diastolic stiffness of the failing diabetic heart: importance of fibrosis, advanced glycation end products and myocyte resting tension

Téma

Experimentális kardiológia (9)

Kulcsszavak

diabetes mellitus, heart failure, diastolic function, fibrosis, AGEs, cardiomyocyte resting tension

Típus

ifj. Előadás (10 perc + 5 perc vita)

Absztrakt (magyar)

BEVEZETÉS: Diabetes mellitusban (DM) szenvedő betegekben a szív diasztolés diszfunkciója fontos szerepet játszik a szívelégtelenség kialakulásában. Ismert, hogy a DM a glikációs végtermékek (AGEs) és a kollagén miokardiumban történő lerakódása útján károsítja a bal kamra diasztolés funkcióját. Az is tudott, hogy elsősorban diasztolés szívelégtelenségben szenvedő betegekben a szívizomsejtek emelkedett passzív feszülése szerepet játszik a bal kamra kóros feszülésében. Jelen tanulmányunkban azt vizsgáltuk, hogy a fibrózis, az AGEs lerakódása és a szívizomsejtek passzív feszülése milyen mértékben járul hozzá a diasztolés diszfunkcióhoz szisztolés és diasztolés szívelégtelenségben. **MÓDSZEREK ÉS EREDMÉNYEK:** 28 diasztolés és 36 szisztolés szívelégtelenségben szenvedő, ép koszorúsér-státusszal rendelkező betegből származó bal kamrai endomiokardiális biopsziákat dolgoztunk fel, akik közül 16, illetve 10 beteg volt diabéteses. Meghatároztuk a szívizomminták kollagén- és AGEs tartalmát, valamint a biopsziákból izolált szívizomsejtek passzív erejét. A diabéteses betegekben emelkedett in vivo diasztolés feszülést mértünk tekintet nélkül a bal kamrai szisztolés funkcióra. Szisztolés szívelégtelenségben szenvedő diabéteses betegekben nagyobb kollagén térfogat arányt találtunk ($14.6 \pm 1.0\%$ vs. $22.4 \pm 2.2\%$, $P < 0.001$), míg a diasztolés szívelégtelen betegekben a szívizomsejtek passzív feszülése bizonyult magasabbnak (5.1 ± 0.7 vs. 8.5 ± 0.9 kN/m², $P = 0.006$). A diabéteses szisztolés szívelégtelen betegekben nagyobb mértékű AGEs lerakódást figyeltünk meg (8.8 ± 2.5 vs. 24.1 ± 3.8 score/mm²; $P = 0.005$), mint diasztolés szívelégtelen betegekben (8.2 ± 2.5 vs. 15.7 ± 2.7 score/mm², $P = \text{NS}$). **KÖVETKEZTETÉSEK:** Diabéteses betegekben a szívizom megnövekedett diasztolés feszüléséért eltérő mechanizmusok felelősek szisztolés és diasztolés szívelégtelenségben: szisztolés szívelégtelenségben elsősorban a fibrózis és az AGEs lerakódása, míg diasztolés szívelégtelenségben a szívizomsejtek kórosan emelkedett passzív feszülése játszhat szerepet.

Absztrakt (angol)

BACKGROUND: Excessive diastolic left ventricular stiffness is an important contributor to heart failure in patients with diabetes mellitus. Diabetes is presumed to increase stiffness through myocardial deposition of collagen and advanced glycation end products (AGEs). Cardiomyocyte resting tension also elevates stiffness, especially in heart failure with normal left ventricular ejection fraction (LVEF). The contribution to diastolic stiffness of fibrosis, AGEs, and cardiomyocyte resting tension was assessed in diabetic heart failure patients with normal or reduced LVEF. **METHODS AND RESULTS:** Left ventricular endomyocardial biopsy samples were procured in 28 patients with normal LVEF and 36 patients with reduced LVEF, all without coronary artery disease. Sixteen patients with normal LVEF and 10 with reduced LVEF had diabetes mellitus. Biopsy samples were used for quantification of collagen and AGEs and for isolation of cardiomyocytes to measure resting tension. Diabetic heart failure patients had higher diastolic left ventricular stiffness irrespective of LVEF. Diabetes mellitus increased the myocardial collagen volume fraction only in patients with reduced LVEF (from $14.6 \pm 1.0\%$ to $22.4 \pm 2.2\%$, $P < 0.001$) and increased cardiomyocyte resting tension only in patients with normal LVEF (from 5.1 ± 0.7 to 8.5 ± 0.9 kN/m², $P = 0.006$). Diabetes increased myocardial AGE deposition in patients with reduced LVEF (from 8.8 ± 2.5 to 24.1 ± 3.8 score/mm²; $P = 0.005$) and less so in patients with normal LVEF (from 8.2 ± 2.5 to 15.7 ± 2.7 score/mm², $P = \text{NS}$). **CONCLUSIONS:** Mechanisms responsible for the increased diastolic stiffness of the diabetic heart differ in heart failure with reduced and normal LVEF: fibrosis and AGEs are more important when LVEF is reduced, whereas cardiomyocyte resting tension is more important when LVEF is normal.

Sorszám

149. ifj.

Szerzők neve

Pankotai Eszter, Cselenyák Attila, Rátosi Orsolya, Lőrincz Judit, Weszl Miklós, Váczi Gabriella, Kollai Márk, Lacza Zsombor

Klinikai Kísérleti Kutató és Humán Élettani Intézet, Semmelweis Egyetem

Cím (magyar)

A mitokondriumok szerepe iszkémiában károsodott szívizomsejtek megmentésében

Cím (angol)

Neighboring healthy cells rescue cardiomyocytes from post-ischemic injury through a mitochondria-dependent process

Téma

Experimentális kardiológia (9)

Kulcsszavak

mitochondria, oxidative stress, ischemia-reperfusion

Típus

ifj. Előadás (10 perc + 5 perc vita)

Absztrakt (magyar)

Bevezetés: A mitokondriumok biztosítják a sejt működéséhez szükséges energiát, de szerepük a sejthalál folyamatában is bizonyított kóros folyamatokban, így iszkémia, szívelégtelenség és kardiomiopátia esetén is. Korábbi tanulmányok szerint két sejt között lehetséges a mitokondriumok kicserélődése, aminek a sejt energiahiányának helyreállításában lehet szerepe. Kísérleteinkben oxigén és glükóz egyidejű megvonásával (OGD) iszkémiás állapotot modelleztünk szívizomsejteken, majd azt vizsgáltuk, megmenthetők-e a károsodott sejtek egészséges szívizomsejtek hozzáadásával; illetve, hogy milyen szerepe lehet a mitokondriumoknak ebben a folyamatban. Módszerek: Vybrant DIO fluoreszcens festékkel jelölt patkány szívizomsejteket (H9C2) 2,5 órás OGD kezelésnek vetettük alá, majd Vybrant DID-del jelölt egészséges szívizomsejteket vagy etidium-bromiddal (EtBr) kezelt sejteket adtunk hozzájuk, és 24 óra múlva felvételeket készítettünk róluk konfokális mikroszkóppal. Az EtBr (50ng/ml, 30 napon át) a mitokondriális DNS-t károsítja. Az élők és a halott sejtek arányát sejtszámláló programmal határoztuk meg. Eredmények: Az egészséges H9C2 sejtek javították az OGD-n átesett szívizomsejtek túlélési arányát (11,5±4,2% vs. 56,9±20,6%, p<0,05), Az EtBr-al kezelt sejtek hozzáadását követően azonban a túlélő sejtek száma a kontroll szinthez hasonlóra csökkent (11,5±4,2% vs. 21,9±7,9%, p=0,51). Mito-tracker festékkel jelölt sejtekről készült nagyfelbontású felvételek azt mutatják, hogy a mitokondriumok közvetlen kapcsolatokon keresztül képesek átjutni egyik sejtbe a másikba. A sejt kultúrához kívülről adott izolált mitokondriumok nem épültek be a szívizomsejtekbe. Következtetés: Az egészséges sejtek képesek megmenteni az oxidatív stresszben károsodott szívizomsejtek nagy részét. Az egészséges mitokondriumok jelentős szerepet játszanak ebben a folyamatban az energiaszint visszaállításával a károsult sejtekben, vagy pedig a sérült mitokondriumokból felszabaduló sejthalálhoz vezető jelek gátlásával. OTKA D45933, T049621, AÖU 66öu5, Bolyai és Öveges Ösztöndíjak

Absztrakt (angol)

Background: Mitochondria are the sources of energy in cardiac cells and they are also responsible for initiating cell death in various pathologies such as ischemia-reperfusion injury, cardiomyopathy, and congestive heart failure. Previous studies showed that mitochondria may be swapped between two cells which may have a role in the restoration of cellular energy failure. In this study we mimicked ischemic injury using the oxygen-glucose deprivation model (OGD) and monitored if the addition of healthy or mitochondria-depleted cardiomyocytes can save OGD treated cells from post-ischemic injury. Methods: Vybrant DIO fluorescent-labeled rat cardiomyocytes (H9C2) were treated with OGD for 2.5 hours. Vybrant DID-labeled healthy or mitochondria-depleted cells were added after OGD and co-cultured for 24 hours. Mitochondria-depletion was achieved by pre-incubation of the cells with ethidium-bromide for one month (50ng/ml). Fluorescent microphotographs were taken by a confocal microscope and the live-dead cell ratio was calculated using a cell counter program. Results: Addition of healthy H9C2 cells significantly improved the survival of the OGD treated cells (11,5±4,2% vs. 56,9±20,6%, p<0,05). In case the rescue cells were depleted from their mitochondria pool, this effect was much less effective (11,5±4,2% vs. 21,9±7,9%, p=0,51). High-resolution confocal time-lapse imaging of cells stained with mito-tracker dyes indicated that mitochondria may be transferred from one cell to the other through direct contact. Addition of isolated mitochondria to the culture did not result in incorporation of the organelles into the cells. Conclusion: Addition of healthy cells to severely injured post-ischemic cardiomyocytes can rescue the majority of cells from death. Healthy mitochondria play a crucial role in this process either by restoring energy levels in the dying cells or by inhibiting cell death signals of damaged mitochondria. Supported by OTKA D45933, T049621, AÖU 66öu5, Bolyai and Öveges Fellowships.

Sorszám

155.

Szerzők neve

Prorok János, Nagy Norbert, Kormos Anita, Acsai Károly, Papp Gyula, Varró András, Tóth András

SZTE, ÁOK, Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet; MTA Keringéscsökkentő Farmakológiai Kutatócsoport, Szeged

Cím (magyar)

A Na⁺/Ca²⁺ cseremechanizmust blokkoló SEA0400 hatása intracelluláris Ca²⁺ koncentráció függő kutya balkamrai szívizomsejtekben

Cím (angol)

The effect of the NCX inhibitor SEA0400 is intracellular Ca²⁺ level dependent in canine ventricular myocytes.

Téma

Experimentális kardiológia (9)

Kulcsszavak

Na⁺/Ca²⁺ exchanger, NCX inhibitor, SEA0400, calcium transient, dog ventricular myocytes

Típus

Előadás (10 perc + 5 perc vita)

Absztrakt (magyar)

Bevezetés: Patch clamp kísérletekben megállapítottuk, hogy a szelektív NCX gátló SEA0400, alacsony [Ca²⁺]_i szint mellett 1 μM koncentrációban hatásosan (50-80%) blokkolja az NCX áramot. Ugyanakkor a [Ca²⁺]_i transziensben és kontrakcióban várt jelentős változásokat nem észleltük sem izolált kontraháló szívizomsejteken sem perfundált szíven. Az ellentmondásos eredmények egyik lehetséges magyarázata, hogy az NCX gátlás mértéke a szív ciklus során nem állandó. Ezért jelen munkánk célja az volt, hogy meghatározzuk a SEA0400 NCX gátló hatásának intracelluláris kalcium függését. Módszerek: Patch clamp kísérletekben az NCX áramot nikkel-szenzitív áramként határoztuk meg pipetta oldatokkal beállított 55, 140, 500 és 1000 nM [Ca²⁺]_i szintek mellett. Egy másik kísérletsorozatban a koffein-indukált [Ca²⁺]_i transziens relaxációjának SEA0400 hatására történő megnyúlását mértük, és a gátlás mértékét a kontroll, a SEA0400 kezelt és a Ni²⁺-gátolt koffein transziens relaxációs kinetikájának összehasonlításából határoztuk meg. Az [Ca²⁺]_i változásait Fluo-4 festékkel monitoroztuk, a sejtrövidülést -video edge- detektorral követtük. Eredmények: 1 μM SEA0400 mind az inward, mind az outward NCX áramot [Ca²⁺]_i függő módon blokkolta (55 nM [Ca²⁺]_i esetén 60-80%-kal, míg 1 μM [Ca²⁺]_i mellett 28-40%-kal). Azaz a gátló hatás ~50%-al csökkent a diasztolés értékről szisztolés értékre növekedett [Ca²⁺]_i szintek esetén. A koffein transziens relaxációs időállandója ugyancsak megnőtt (1.03±0.05-ről 1.32±0.06-ra), de jelentősen elmaradt a 10 mM Ni²⁺ jelenlétében tapasztalt növekedéstől (fél relaxációs idő: 1.3±0.1 s-ről 10.1±1.3 s-ra). Következtetések: Eredményeink bizonyítják, hogy a SEA0400 NCX-re gyakorolt blokkoló hatása erősen függ a pillanatnyi [Ca²⁺]_i értékétől és szignifikánsan alacsonyabb szisztolés, mint diasztolés kalcium koncentrációk esetén. Ez a Ca-függés jól magyarázza a gátlószert viszonylag kismértékű hatását az intracelluláris kalcium homeosztázisra.

Absztrakt (angol)

Background: In previous patch clamp experiments we found that in 1 μM concentration SEA0400, a selective NCX inhibitor, effectively blocks NCX current at low [Ca²⁺]_i levels (50-80%). The expected major shifts in [Ca²⁺]_i transient and contractility, however, were not observed in isolated paced cardiomyocytes or perfused hearts. A feasible explanation for these controversial results may be, that the level of blockade is modulated during cardiac cycle. The aim of this study was to evaluate the calcium dependence of the inhibitory effect of SEA0400 in canine ventricular myocytes. Methods: In patch clamp experiments the NCX current was determined as the Ni²⁺ sensitive current at four (55, 140, 500, 1000 nM [Ca²⁺]_i) pipette solutions. In other set of measurements the lengthening effect of SEA0400 on the recovery of the caffeine induced [Ca²⁺]_i elevation was determined. The level of inhibition was calculated by comparing the recovery kinetics of caffeine transients from control, SEA0400-treated and Ni²⁺-blocked cardiomyocytes. [Ca²⁺]_i transients were monitored by Fluo-4. Cell shortening was recorded by a video edge detector. Results: 1 μM SEA0400 suppressed both inward and outward exchange currents in a Ca-dependent fashion (from 60% & 80% at 55 nM to 28% & 40% at 1000 nM, respectively). Thus, the blocking effect was reduced by ~50% increasing [Ca²⁺]_i from diastolic to systolic level. The rate of decay of the caffeine transient was also decreased substantially (decay time constant increased from 1.03±0.05 to 1.32±0.06 s), but much less than that by 10 mM NiCl₂ (half relaxation time increased from 1.3±0.1 to 10.1±1.3 s). Conclusions: Our results suggest, that the blocking effect of SEA0400 on NCX is strongly dependent on the momentary value of [Ca²⁺]_i, being significantly lower at systolic than at diastolic levels. This dependence can well explain its relatively minor functional effects on intracellular calcium handling in canine myocytes.

Sorszám

23. ifj.

Szerzők neve

Borbély Attila, Loek van Heerebeek, Nazha Hamdani, René Musters, Jolanda van der Velden, Ger J.M. Stienen, Papp Zoltán, Édes István, Walter J. Paulus
Debreceni Egyetem, Orvos és Egészségtudományi Centrum, Kardiológiai Intézet, Laboratory for Physiology, Institute for Cardiovascular Research, VU Medical Center, Amsterdam, The Netherlands, Debreceni Egyetem, Orvos és Egészségtudományi Centrum, Kardiológiai Intézet

Cím (magyar)

Diasztolés diszfunkció diabéteszes cardiomyopathiában: a fibrózis, a glikációs végtermékek és a passzív szívizomsejt-feszülés szerepe

Cím (angol)

Diastolic stiffness of the failing diabetic heart: importance of fibrosis, advanced glycation end products and myocyte resting tension

Téma

Experimentális kardiológia (9)

Kulcsszavak

diabetes mellitus, heart failure, diastolic function, fibrosis, AGEs, cardiomyocyte resting tension

Típus

ifj. Előadás (10 perc + 5 perc vita)

Absztrakt (magyar)

BEVEZETÉS: Diabetes mellitusban (DM) szenvedő betegekben a szív diasztolés diszfunkciója fontos szerepet játszik a szívelégtelenség kialakulásában. Ismert, hogy a DM a glikációs végtermékek (AGEs) és a kollagén miokardiumban történő lerakódása útján károsítja a bal kamra diasztolés funkcióját. Az is tudott, hogy elsősorban diasztolés szívelégtelenségben szenvedő betegekben a szívizomsejtek emelkedett passzív feszülése szerepet játszik a bal kamra kóros feszülésében. Jelen tanulmányunkban azt vizsgáltuk, hogy a fibrózis, az AGEs lerakódása és a szívizomsejtek passzív feszülése milyen mértékben járul hozzá a diasztolés diszfunkcióhoz szisztolés és diasztolés szívelégtelenségben. **MÓDSZEREK ÉS EREDMÉNYEK:** 28 diasztolés és 36 szisztolés szívelégtelenségben szenvedő, ép koszorúsér-státusszal rendelkező betegből származó bal kamrai endomiokardiális biopsziákat dolgoztunk fel, akik közül 16, illetve 10 beteg volt diabéteses. Meghatároztuk a szívizomminták kollagén- és AGEs tartalmát, valamint a biopsziákból izolált szívizomsejtek passzív erejét. A diabéteses betegekben emelkedett in vivo diasztolés feszülést mértünk tekintet nélkül a bal kamrai szisztolés funkcióra. Szisztolés szívelégtelenségben szenvedő diabéteses betegekben nagyobb kollagén térfogat arányt találtunk ($14.6 \pm 1.0\%$ vs. $22.4 \pm 2.2\%$, $P < 0.001$), míg a diasztolés szívelégtelen betegekben a szívizomsejtek passzív feszülése bizonyult magasabbnak (5.1 ± 0.7 vs. 8.5 ± 0.9 kN/m², $P = 0.006$). A diabéteses szisztolés szívelégtelen betegekben nagyobb mértékű AGEs lerakódást figyeltünk meg (8.8 ± 2.5 vs. 24.1 ± 3.8 score/mm²; $P = 0.005$), mint diasztolés szívelégtelen betegekben (8.2 ± 2.5 vs. 15.7 ± 2.7 score/mm², $P = \text{NS}$). **KÖVETKEZTETÉSEK:** Diabéteses betegekben a szívizom megnövekedett diasztolés feszüléséért eltérő mechanizmusok felelősek szisztolés és diasztolés szívelégtelenségben: szisztolés szívelégtelenségben elsősorban a fibrózis és az AGEs lerakódása, míg diasztolés szívelégtelenségben a szívizomsejtek kórosan emelkedett passzív feszülése játszhat szerepet.

Absztrakt (angol)

BACKGROUND: Excessive diastolic left ventricular stiffness is an important contributor to heart failure in patients with diabetes mellitus. Diabetes is presumed to increase stiffness through myocardial deposition of collagen and advanced glycation end products (AGEs). Cardiomyocyte resting tension also elevates stiffness, especially in heart failure with normal left ventricular ejection fraction (LVEF). The contribution to diastolic stiffness of fibrosis, AGEs, and cardiomyocyte resting tension was assessed in diabetic heart failure patients with normal or reduced LVEF. **METHODS AND RESULTS:** Left ventricular endomyocardial biopsy samples were procured in 28 patients with normal LVEF and 36 patients with reduced LVEF, all without coronary artery disease. Sixteen patients with normal LVEF and 10 with reduced LVEF had diabetes mellitus. Biopsy samples were used for quantification of collagen and AGEs and for isolation of cardiomyocytes to measure resting tension. Diabetic heart failure patients had higher diastolic left ventricular stiffness irrespective of LVEF. Diabetes mellitus increased the myocardial collagen volume fraction only in patients with reduced LVEF (from $14.6 \pm 1.0\%$ to $22.4 \pm 2.2\%$, $P < 0.001$) and increased cardiomyocyte resting tension only in patients with normal LVEF (from 5.1 ± 0.7 to 8.5 ± 0.9 kN/m², $P = 0.006$). Diabetes increased myocardial AGE deposition in patients with reduced LVEF (from 8.8 ± 2.5 to 24.1 ± 3.8 score/mm²; $P = 0.005$) and less so in patients with normal LVEF (from 8.2 ± 2.5 to 15.7 ± 2.7 score/mm², $P = \text{NS}$). **CONCLUSIONS:** Mechanisms responsible for the increased diastolic stiffness of the diabetic heart differ in heart failure with reduced and normal LVEF: fibrosis and AGEs are more important when LVEF is reduced, whereas cardiomyocyte resting tension is more important when LVEF is normal.

Sorszám

149. ifj.

Szerzők neve

Pankotai Eszter, Cselenyák Attila, Rátosi Orsolya, Lőrincz Judit, Weszl Miklós, Váczi Gabriella, Kollai Márk, Lacza Zsombor

Klinikai Kísérleti Kutató és Humán Élettani Intézet, Semmelweis Egyetem

Cím (magyar)

A mitokondriumok szerepe iszkémiában károsodott szívizomsejtek megmentésében

Cím (angol)

Neighboring healthy cells rescue cardiomyocytes from post-ischemic injury through a mitochondria-dependent process

Téma

Experimentális kardiológia (9)

Kulcsszavak

mitochondria, oxidative stress, ischemia-reperfusion

Típus

ifj. Előadás (10 perc + 5 perc vita)

Absztrakt (magyar)

Bevezetés: A mitokondriumok biztosítják a sejt működéséhez szükséges energiát, de szerepük a sejthalál folyamatában is bizonyított kóros folyamatokban, így iszkémia, szívelégtelenség és kardiomiopátia esetén is. Korábbi tanulmányok szerint két sejt között lehetséges a mitokondriumok kicserélődése, aminek a sejt energiahiányának helyreállításában lehet szerepe. Kísérleteinkben oxigén és glükóz egyidejű megvonásával (OGD) iszkémiás állapotot modelleztünk szívizomsejteken, majd azt vizsgáltuk, megmenthetők-e a károsodott sejtek egészséges szívizomsejtek hozzáadásával; illetve, hogy milyen szerepe lehet a mitokondriumoknak ebben a folyamatban. Módszerek: Vybrant DIO fluoreszcens festékkel jelölt patkány szívizomsejteket (H9C2) 2,5 órás OGD kezelésnek vetettük alá, majd Vybrant DID-del jelölt egészséges szívizomsejteket vagy etidium-bromiddal (EtBr) kezelt sejteket adtunk hozzájuk, és 24 óra múlva felvételeket készítettünk róluk konfokális mikroszkóppal. Az EtBr (50ng/ml, 30 napon át) a mitokondriális DNS-t károsítja. Az élők és a halott sejtek arányát sejtszámláló programmal határoztuk meg. Eredmények: Az egészséges H9C2 sejtek javították az OGD-n átesett szívizomsejtek túlélési arányát (11,5±4,2% vs. 56,9±20,6%, p<0,05), Az EtBr-al kezelt sejtek hozzáadását követően azonban a túlélő sejtek száma a kontroll szinthez hasonlóra csökkent (11,5±4,2% vs. 21,9±7,9%, p=0,51). Mito-tracker festékkel jelölt sejtekről készült nagyfelbontású felvételek azt mutatják, hogy a mitokondriumok közvetlen kapcsolatokon keresztül képesek átjutni egyik sejtbe a másikba. A sejt kultúrához kívülről adott izolált mitokondriumok nem épültek be a szívizomsejtekbe. Következtetés: Az egészséges sejtek képesek megmenteni az oxidatív stresszben károsodott szívizomsejtek nagy részét. Az egészséges mitokondriumok jelentős szerepet játszanak ebben a folyamatban az energiaszint visszaállításával a károsult sejtekben, vagy pedig a sérült mitokondriumokból felszabaduló sejthalálhoz vezető jelek gátlásával. OTKA D45933, T049621, AÖU 6605, Bolyai és Öveges Ösztöndíjak

Absztrakt (angol)

Background: Mitochondria are the sources of energy in cardiac cells and they are also responsible for initiating cell death in various pathologies such as ischemia-reperfusion injury, cardiomyopathy, and congestive heart failure. Previous studies showed that mitochondria may be swapped between two cells which may have a role in the restoration of cellular energy failure. In this study we mimicked ischemic injury using the oxygen-glucose deprivation model (OGD) and monitored if the addition of healthy or mitochondria-depleted cardiomyocytes can save OGD treated cells from post-ischemic injury. Methods: Vybrant DIO fluorescent-labeled rat cardiomyocytes (H9C2) were treated with OGD for 2.5 hours. Vybrant DID-labeled healthy or mitochondria-depleted cells were added after OGD and co-cultured for 24 hours. Mitochondria-depletion was achieved by pre-incubation of the cells with ethidium-bromide for one month (50ng/ml). Fluorescent microphotographs were taken by a confocal microscope and the live-dead cell ratio was calculated using a cell counter program. Results: Addition of healthy H9C2 cells significantly improved the survival of the OGD treated cells (11,5±4,2% vs. 56,9±20,6%, p<0,05). In case the rescue cells were depleted from their mitochondria pool, this effect was much less effective (11,5±4,2% vs. 21,9±7,9%, p=0,51). High-resolution confocal time-lapse imaging of cells stained with mito-tracker dyes indicated that mitochondria may be transferred from one cell to the other through direct contact. Addition of isolated mitochondria to the culture did not result in incorporation of the organelles into the cells. Conclusion: Addition of healthy cells to severely injured post-ischemic cardiomyocytes can rescue the majority of cells from death. Healthy mitochondria play a crucial role in this process either by restoring energy levels in the dying cells or by inhibiting cell death signals of damaged mitochondria. Supported by OTKA D45933, T049621, AÖU 6605, Bolyai and Öveges Fellowships.

Sorszám

155.

Szerzők neve

Prorok János, Nagy Norbert, Kormos Anita, Acsai Károly, Papp Gyula, Varró András, Tóth András

SZTE, ÁOK, Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet; MTA Keringéscsökkentő Farmakológiai Kutatócsoport, Szeged

Cím (magyar)

A Na⁺/Ca²⁺ cseremechanizmust blokkoló SEA0400 hatása intracelluláris Ca²⁺ koncentráció függő kutya balkamrai szívizomsejtekben

Cím (angol)

The effect of the NCX inhibitor SEA0400 is intracellular Ca²⁺ level dependent in canine ventricular myocytes.

Téma

Experimentális kardiológia (9)

Kulcsszavak

Na⁺/Ca²⁺ exchanger, NCX inhibitor, SEA0400, calcium transient, dog ventricular myocytes

Típus

Előadás (10 perc + 5 perc vita)

Absztrakt (magyar)

Bevezetés: Patch clamp kísérletekben megállapítottuk, hogy a szelektív NCX gátló SEA0400, alacsony [Ca²⁺]_i szint mellett 1 μM koncentrációban hatásosan (50-80%) blokkolja az NCX áramot. Ugyanakkor a [Ca²⁺]_i transziensben és kontrakcióban várt jelentős változásokat nem észleltük sem izolált kontraháló szívizomsejteken sem perfundált szíven. Az ellentmondásos eredmények egyik lehetséges magyarázata, hogy az NCX gátlás mértéke a szív ciklus során nem állandó. Ezért jelen munkánk célja az volt, hogy meghatározzuk a SEA0400 NCX gátló hatásának intracelluláris kalcium függését. Módszerek: Patch clamp kísérletekben az NCX áramot nikkel-szenzitív áramként határoztuk meg pipetta oldatokkal beállított 55, 140, 500 és 1000 nM [Ca²⁺]_i szintek mellett. Egy másik kísérletsorozatban a koffein-indukált [Ca²⁺]_i transziens relaxációjának SEA0400 hatására történő megnyúlását mértük, és a gátlás mértékét a kontroll, a SEA0400 kezelt és a Ni²⁺-gátolt koffein transziens relaxációs kinetikájának összehasonlításából határoztuk meg. Az [Ca²⁺]_i változásait Fluo-4 festékkel monitoroztuk, a sejtrövidülést -video edge- detektorral követtük. Eredmények: 1 μM SEA0400 mind az inward, mind az outward NCX áramot [Ca²⁺]_i függő módon blokkolta (55 nM [Ca²⁺]_i esetén 60-80%-kal, míg 1 μM [Ca²⁺]_i mellett 28-40%-kal). Azaz a gátló hatás ~50%-al csökkent a diasztolés értékről szisztolés értékre növekedett [Ca²⁺]_i szintek esetén. A koffein transziens relaxációs időállandója ugyancsak megnőtt (1.03±0.05-ről 1.32±0.06-ra), de jelentősen elmaradt a 10 mM Ni²⁺ jelenlétében tapasztalt növekedéstől (fél relaxációs idő: 1.3±0.1 s-ről 10.1±1.3 s-ra). Következtetések: Eredményeink bizonyítják, hogy a SEA0400 NCX-re gyakorolt blokkoló hatása erősen függ a pillanatnyi [Ca²⁺]_i értékétől és szignifikánsan alacsonyabb szisztolés, mint diasztolés kalcium koncentrációk esetén. Ez a Ca-függés jól magyarázza a gátlószert viszonylag kismértékű hatását az intracelluláris kalcium homeosztázisra.

Absztrakt (angol)

Background: In previous patch clamp experiments we found that in 1 μM concentration SEA0400, a selective NCX inhibitor, effectively blocks NCX current at low [Ca²⁺]_i levels (50-80%). The expected major shifts in [Ca²⁺]_i transient and contractility, however, were not observed in isolated paced cardiomyocytes or perfused hearts. A feasible explanation for these controversial results may be, that the level of blockade is modulated during cardiac cycle. The aim of this study was to evaluate the calcium dependence of the inhibitory effect of SEA0400 in canine ventricular myocytes. Methods: In patch clamp experiments the NCX current was determined as the Ni²⁺ sensitive current at four (55, 140, 500, 1000 nM [Ca²⁺]_i) pipette solutions. In other set of measurements the lengthening effect of SEA0400 on the recovery of the caffeine induced [Ca²⁺]_i elevation was determined. The level of inhibition was calculated by comparing the recovery kinetics of caffeine transients from control, SEA0400-treated and Ni²⁺-blocked cardiomyocytes. [Ca²⁺]_i transients were monitored by Fluo-4. Cell shortening was recorded by a video edge detector. Results: 1 μM SEA0400 suppressed both inward and outward exchange currents in a Ca-dependent fashion (from 60% & 80% at 55 nM to 28% & 40% at 1000 nM, respectively). Thus, the blocking effect was reduced by ~50% increasing [Ca²⁺]_i from diastolic to systolic level. The rate of decay of the caffeine transient was also decreased substantially (decay time constant increased from 1.03±0.05 to 1.32±0.06 s), but much less than that by 10 mM NiCl₂ (half relaxation time increased from 1.3±0.1 to 10.1±1.3 s). Conclusions: Our results suggest, that the blocking effect of SEA0400 on NCX is strongly dependent on the momentary value of [Ca²⁺]_i, being significantly lower at systolic than at diastolic levels. This dependence can well explain its relatively minor functional effects on intracellular calcium handling in canine myocytes.

Sorszám

23. ifj.

Szerzők neve

Borbély Attila, Loek van Heerebeek, Nazha Hamdani, René Musters, Jolanda van der Velden, Ger J.M. Stienen, Papp Zoltán, Édes István, Walter J. Paulus
Debreceni Egyetem, Orvos és Egészségtudományi Centrum, Kardiológiai Intézet, Laboratory for Physiology, Institute for Cardiovascular Research, VU Medical Center, Amsterdam, The Netherlands, Debreceni Egyetem, Orvos és Egészségtudományi Centrum, Kardiológiai Intézet

Cím (magyar)

Diasztolés diszfunkció diabéteszes cardiomyopathiában: a fibrózis, a glikációs végtermékek és a passzív szívizomsejt-feszülés szerepe

Cím (angol)

Diastolic stiffness of the failing diabetic heart: importance of fibrosis, advanced glycation end products and myocyte resting tension

Téma

Experimentális kardiológia (9)

Kulcsszavak

diabetes mellitus, heart failure, diastolic function, fibrosis, AGEs, cardiomyocyte resting tension

Típus

ifj. Előadás (10 perc + 5 perc vita)

Absztrakt (magyar)

BEVEZETÉS: Diabetes mellitusban (DM) szenvedő betegekben a szív diasztolés diszfunkciója fontos szerepet játszik a szívelégtelenség kialakulásában. Ismert, hogy a DM a glikációs végtermékek (AGEs) és a kollagén miokardiumban történő lerakódása útján károsítja a bal kamra diasztolés funkcióját. Az is tudott, hogy elsősorban diasztolés szívelégtelenségben szenvedő betegekben a szívizomsejtek emelkedett passzív feszülése szerepet játszik a bal kamra kóros feszülésében. Jelen tanulmányunkban azt vizsgáltuk, hogy a fibrózis, az AGEs lerakódása és a szívizomsejtek passzív feszülése milyen mértékben járul hozzá a diasztolés diszfunkcióhoz szisztolés és diasztolés szívelégtelenségben. **MÓDSZEREK ÉS EREDMÉNYEK:** 28 diasztolés és 36 szisztolés szívelégtelenségben szenvedő, ép koszorúsér-státusszal rendelkező betegből származó bal kamrai endomiokardiális biopsziákat dolgoztunk fel, akik közül 16, illetve 10 beteg volt diabéteses. Meghatároztuk a szívizomminták kollagén- és AGEs tartalmát, valamint a biopsziákból izolált szívizomsejtek passzív erejét. A diabéteses betegekben emelkedett in vivo diasztolés feszülést mértünk tekintet nélkül a bal kamrai szisztolés funkcióra. Szisztolés szívelégtelenségben szenvedő diabéteses betegekben nagyobb kollagén térfogat arányt találtunk ($14.6 \pm 1.0\%$ vs. $22.4 \pm 2.2\%$, $P < 0.001$), míg a diasztolés szívelégtelen betegekben a szívizomsejtek passzív feszülése bizonyult magasabbnak (5.1 ± 0.7 vs. 8.5 ± 0.9 kN/m², $P = 0.006$). A diabéteses szisztolés szívelégtelen betegekben nagyobb mértékű AGEs lerakódást figyeltünk meg (8.8 ± 2.5 vs. 24.1 ± 3.8 score/mm²; $P = 0.005$), mint diasztolés szívelégtelen betegekben (8.2 ± 2.5 vs. 15.7 ± 2.7 score/mm², $P = \text{NS}$). **KÖVETKEZTETÉSEK:** Diabéteses betegekben a szívizom megnövekedett diasztolés feszüléséért eltérő mechanizmusok felelősek szisztolés és diasztolés szívelégtelenségben: szisztolés szívelégtelenségben elsősorban a fibrózis és az AGEs lerakódása, míg diasztolés szívelégtelenségben a szívizomsejtek kórosan emelkedett passzív feszülése játszhat szerepet.

Absztrakt (angol)

BACKGROUND: Excessive diastolic left ventricular stiffness is an important contributor to heart failure in patients with diabetes mellitus. Diabetes is presumed to increase stiffness through myocardial deposition of collagen and advanced glycation end products (AGEs). Cardiomyocyte resting tension also elevates stiffness, especially in heart failure with normal left ventricular ejection fraction (LVEF). The contribution to diastolic stiffness of fibrosis, AGEs, and cardiomyocyte resting tension was assessed in diabetic heart failure patients with normal or reduced LVEF. **METHODS AND RESULTS:** Left ventricular endomyocardial biopsy samples were procured in 28 patients with normal LVEF and 36 patients with reduced LVEF, all without coronary artery disease. Sixteen patients with normal LVEF and 10 with reduced LVEF had diabetes mellitus. Biopsy samples were used for quantification of collagen and AGEs and for isolation of cardiomyocytes to measure resting tension. Diabetic heart failure patients had higher diastolic left ventricular stiffness irrespective of LVEF. Diabetes mellitus increased the myocardial collagen volume fraction only in patients with reduced LVEF (from $14.6 \pm 1.0\%$ to $22.4 \pm 2.2\%$, $P < 0.001$) and increased cardiomyocyte resting tension only in patients with normal LVEF (from 5.1 ± 0.7 to 8.5 ± 0.9 kN/m², $P = 0.006$). Diabetes increased myocardial AGE deposition in patients with reduced LVEF (from 8.8 ± 2.5 to 24.1 ± 3.8 score/mm²; $P = 0.005$) and less so in patients with normal LVEF (from 8.2 ± 2.5 to 15.7 ± 2.7 score/mm², $P = \text{NS}$). **CONCLUSIONS:** Mechanisms responsible for the increased diastolic stiffness of the diabetic heart differ in heart failure with reduced and normal LVEF: fibrosis and AGEs are more important when LVEF is reduced, whereas cardiomyocyte resting tension is more important when LVEF is normal.

Sorszám

149. ifj.

Szerzők neve

Pankotai Eszter, Cselenyák Attila, Rátosi Orsolya, Lőrincz Judit, Weszl Miklós, Váczi Gabriella, Kollai Márk, Lacza Zsombor

Klinikai Kísérleti Kutató és Humán Élettani Intézet, Semmelweis Egyetem

Cím (magyar)

A mitokondriumok szerepe iszkémiában károsodott szívizomsejtek megmentésében

Cím (angol)

Neighboring healthy cells rescue cardiomyocytes from post-ischemic injury through a mitochondria-dependent process

Téma

Experimentális kardiológia (9)

Kulcsszavak

mitochondria, oxidative stress, ischemia-reperfusion

Típus

ifj. Előadás (10 perc + 5 perc vita)

Absztrakt (magyar)

Bevezetés: A mitokondriumok biztosítják a sejt működéséhez szükséges energiát, de szerepük a sejthalál folyamatában is bizonyított kóros folyamatokban, így iszkémia, szívelégtelenség és kardiomiopátia esetén is. Korábbi tanulmányok szerint két sejt között lehetséges a mitokondriumok kicserélődése, aminek a sejt energiahiányának helyreállításában lehet szerepe. Kísérleteinkben oxigén és glükóz egyidejű megvonásával (OGD) iszkémiás állapotot modelleztünk szívizomsejteken, majd azt vizsgáltuk, megmenthetők-e a károsodott sejtek egészséges szívizomsejtek hozzáadásával; illetve, hogy milyen szerepe lehet a mitokondriumoknak ebben a folyamatban. Módszerek: Vybrant DIO fluoreszcens festékkel jelölt patkány szívizomsejteket (H9C2) 2,5 órás OGD kezelésnek vetettük alá, majd Vybrant DID-del jelölt egészséges szívizomsejteket vagy etidium-bromiddal (EtBr) kezelt sejteket adtunk hozzájuk, és 24 óra múlva felvételeket készítettünk róluk konfokális mikroszkóppal. Az EtBr (50ng/ml, 30 napon át) a mitokondriális DNS-t károsítja. Az élők és a halott sejtek arányát sejtszámláló programmal határoztuk meg. Eredmények: Az egészséges H9C2 sejtek javították az OGD-n átesett szívizomsejtek túlélési arányát (11,5±4,2% vs. 56,9±20,6%, p<0,05), Az EtBr-al kezelt sejtek hozzáadását követően azonban a túlélő sejtek száma a kontroll szinthez hasonlóra csökkent (11,5±4,2% vs. 21,9±7,9%, p=0,51). Mito-tracker festékkel jelölt sejtekről készült nagyfelbontású felvételek azt mutatják, hogy a mitokondriumok közvetlen kapcsolatokon keresztül képesek átjutni egyik sejtbe a másikba. A sejt kultúrához kívülről adott izolált mitokondriumok nem épültek be a szívizomsejtekbe. Következtetés: Az egészséges sejtek képesek megmenteni az oxidatív stresszben károsodott szívizomsejtek nagy részét. Az egészséges mitokondriumok jelentős szerepet játszanak ebben a folyamatban az energiaszint visszaállításával a károsult sejtekben, vagy pedig a sérült mitokondriumokból felszabaduló sejthalálhoz vezető jelek gátlásával. OTKA D45933, T049621, AÖU 6605, Bolyai és Öveges Ösztöndíjak

Absztrakt (angol)

Background: Mitochondria are the sources of energy in cardiac cells and they are also responsible for initiating cell death in various pathologies such as ischemia-reperfusion injury, cardiomyopathy, and congestive heart failure. Previous studies showed that mitochondria may be swapped between two cells which may have a role in the restoration of cellular energy failure. In this study we mimicked ischemic injury using the oxygen-glucose deprivation model (OGD) and monitored if the addition of healthy or mitochondria-depleted cardiomyocytes can save OGD treated cells from post-ischemic injury. Methods: Vybrant DIO fluorescent-labeled rat cardiomyocytes (H9C2) were treated with OGD for 2.5 hours. Vybrant DID-labeled healthy or mitochondria-depleted cells were added after OGD and co-cultured for 24 hours. Mitochondria-depletion was achieved by pre-incubation of the cells with ethidium-bromide for one month (50ng/ml). Fluorescent microphotographs were taken by a confocal microscope and the live-dead cell ratio was calculated using a cell counter program. Results: Addition of healthy H9C2 cells significantly improved the survival of the OGD treated cells (11,5±4,2% vs. 56,9±20,6%, p<0,05). In case the rescue cells were depleted from their mitochondria pool, this effect was much less effective (11,5±4,2% vs. 21,9±7,9%, p=0,51). High-resolution confocal time-lapse imaging of cells stained with mito-tracker dyes indicated that mitochondria may be transferred from one cell to the other through direct contact. Addition of isolated mitochondria to the culture did not result in incorporation of the organelles into the cells. Conclusion: Addition of healthy cells to severely injured post-ischemic cardiomyocytes can rescue the majority of cells from death. Healthy mitochondria play a crucial role in this process either by restoring energy levels in the dying cells or by inhibiting cell death signals of damaged mitochondria. Supported by OTKA D45933, T049621, AÖU 6605, Bolyai and Öveges Fellowships.

Sorszám

155.

Szerzők neve

Prorok János, Nagy Norbert, Kormos Anita, Acsai Károly, Papp Gyula, Varró András, Tóth András

SZTE, ÁOK, Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet; MTA Keringéscsökkentő Farmakológiai Kutatócsoport, Szeged

Cím (magyar)

A Na⁺/Ca²⁺ cseremechanizmust blokkoló SEA0400 hatása intracelluláris Ca²⁺ koncentráció függő kutya balkamrai szívizomsejtekben

Cím (angol)

The effect of the NCX inhibitor SEA0400 is intracellular Ca²⁺ level dependent in canine ventricular myocytes.

Téma

Experimentális kardiológia (9)

Kulcsszavak

Na⁺/Ca²⁺ exchanger, NCX inhibitor, SEA0400, calcium transient, dog ventricular myocytes

Típus

Előadás (10 perc + 5 perc vita)

Absztrakt (magyar)

Bevezetés: Patch clamp kísérletekben megállapítottuk, hogy a szelektív NCX gátló SEA0400, alacsony [Ca²⁺]_i szint mellett 1 μM koncentrációban hatásosan (50-80%) blokkolja az NCX áramot. Ugyanakkor a [Ca²⁺]_i transziensben és kontrakcióban várt jelentős változásokat nem észleltük sem izolált kontraháló szívizomsejteken sem perfundált szíven. Az ellentmondásos eredmények egyik lehetséges magyarázata, hogy az NCX gátlás mértéke a szív ciklus során nem állandó. Ezért jelen munkánk célja az volt, hogy meghatározzuk a SEA0400 NCX gátló hatásának intracelluláris kalcium függését. Módszerek: Patch clamp kísérletekben az NCX áramot nikkel-szenzitív áramként határoztuk meg pipetta oldatokkal beállított 55, 140, 500 és 1000 nM [Ca²⁺]_i szintek mellett. Egy másik kísérletsorozatban a koffein-indukált [Ca²⁺]_i transziens relaxációjának SEA0400 hatására történő megnyúlását mértük, és a gátlás mértékét a kontroll, a SEA0400 kezelt és a Ni²⁺-gátolt koffein transziens relaxációs kinetikájának összehasonlításából határoztuk meg. Az [Ca²⁺]_i változásait Fluo-4 festékkel monitoroztuk, a sejtrövidülést -video edge- detektorral követtük. Eredmények: 1 μM SEA0400 mind az inward, mind az outward NCX áramot [Ca²⁺]_i függő módon blokkolta (55 nM [Ca²⁺]_i esetén 60-80%-kal, míg 1 μM [Ca²⁺]_i mellett 28-40%-kal). Azaz a gátló hatás ~50%-al csökkent a diasztolés értékről szisztolés értékre növekedett [Ca²⁺]_i szintek esetén. A koffein transziens relaxációs időállandója ugyancsak megnőtt (1.03±0.05-ről 1.32±0.06-ra), de jelentősen elmaradt a 10 mM Ni²⁺ jelenlétében tapasztalt növekedéstől (fél relaxációs idő: 1.3±0.1 s-ről 10.1±1.3 s-ra). Következtetések: Eredményeink bizonyítják, hogy a SEA0400 NCX-re gyakorolt blokkoló hatása erősen függ a pillanatnyi [Ca²⁺]_i értékétől és szignifikánsan alacsonyabb szisztolés, mint diasztolés kalcium koncentrációk esetén. Ez a Ca-függés jól magyarázza a gátlószert viszonylag kismértékű hatását az intracelluláris kalcium homeosztázisra.

Absztrakt (angol)

Background: In previous patch clamp experiments we found that in 1 μM concentration SEA0400, a selective NCX inhibitor, effectively blocks NCX current at low [Ca²⁺]_i levels (50-80%). The expected major shifts in [Ca²⁺]_i transient and contractility, however, were not observed in isolated paced cardiomyocytes or perfused hearts. A feasible explanation for these controversial results may be, that the level of blockade is modulated during cardiac cycle. The aim of this study was to evaluate the calcium dependence of the inhibitory effect of SEA0400 in canine ventricular myocytes. Methods: In patch clamp experiments the NCX current was determined as the Ni²⁺ sensitive current at four (55, 140, 500, 1000 nM [Ca²⁺]_i) pipette solutions. In other set of measurements the lengthening effect of SEA0400 on the recovery of the caffeine induced [Ca²⁺]_i elevation was determined. The level of inhibition was calculated by comparing the recovery kinetics of caffeine transients from control, SEA0400-treated and Ni²⁺-blocked cardiomyocytes. [Ca²⁺]_i transients were monitored by Fluo-4. Cell shortening was recorded by a video edge detector. Results: 1 μM SEA0400 suppressed both inward and outward exchange currents in a Ca-dependent fashion (from 60% & 80% at 55 nM to 28% & 40% at 1000 nM, respectively). Thus, the blocking effect was reduced by ~50% increasing [Ca²⁺]_i from diastolic to systolic level. The rate of decay of the caffeine transient was also decreased substantially (decay time constant increased from 1.03±0.05 to 1.32±0.06 s), but much less than that by 10 mM NiCl₂ (half relaxation time increased from 1.3±0.1 to 10.1±1.3 s). Conclusions: Our results suggest, that the blocking effect of SEA0400 on NCX is strongly dependent on the momentary value of [Ca²⁺]_i, being significantly lower at systolic than at diastolic levels. This dependence can well explain its relatively minor functional effects on intracellular calcium handling in canine myocytes.

Sorszám

23. ifj.

Szerzők neve

Borbély Attila, Loek van Heerebeek, Nazha Hamdani, René Musters, Jolanda van der Velden, Ger J.M. Stienen, Papp Zoltán, Édes István, Walter J. Paulus
Debreceni Egyetem, Orvos és Egészségtudományi Centrum, Kardiológiai Intézet, Laboratory for Physiology, Institute for Cardiovascular Research, VU Medical Center, Amsterdam, The Netherlands, Debreceni Egyetem, Orvos és Egészségtudományi Centrum, Kardiológiai Intézet

Cím (magyar)

Diasztolés diszfunkció diabéteszes cardiomyopathiában: a fibrózis, a glikációs végtermékek és a passzív szívizomsejt-feszülés szerepe

Cím (angol)

Diastolic stiffness of the failing diabetic heart: importance of fibrosis, advanced glycation end products and myocyte resting tension

Téma

Experimentális kardiológia (9)

Kulcsszavak

diabetes mellitus, heart failure, diastolic function, fibrosis, AGEs, cardiomyocyte resting tension

Típus

ifj. Előadás (10 perc + 5 perc vita)

Absztrakt (magyar)

BEVEZETÉS: Diabetes mellitusban (DM) szenvedő betegekben a szív diasztolés diszfunkciója fontos szerepet játszik a szívelégtelenség kialakulásában. Ismert, hogy a DM a glikációs végtermékek (AGEs) és a kollagén miokardiumban történő lerakódása útján károsítja a bal kamra diasztolés funkcióját. Az is tudott, hogy elsősorban diasztolés szívelégtelenségben szenvedő betegekben a szívizomsejtek emelkedett passzív feszülése szerepet játszik a bal kamra kóros feszülésében. Jelen tanulmányunkban azt vizsgáltuk, hogy a fibrózis, az AGEs lerakódása és a szívizomsejtek passzív feszülése milyen mértékben járul hozzá a diasztolés diszfunkcióhoz szisztolés és diasztolés szívelégtelenségben. **MÓDSZEREK ÉS EREDMÉNYEK:** 28 diasztolés és 36 szisztolés szívelégtelenségben szenvedő, ép koszorúsér-státusszal rendelkező betegből származó bal kamrai endomiokardiális biopsziákat dolgoztunk fel, akik közül 16, illetve 10 beteg volt diabéteses. Meghatároztuk a szívizomminták kollagén- és AGEs tartalmát, valamint a biopsziákból izolált szívizomsejtek passzív erejét. A diabéteses betegekben emelkedett in vivo diasztolés feszülést mértünk tekintet nélkül a bal kamrai szisztolés funkcióra. Szisztolés szívelégtelenségben szenvedő diabéteses betegekben nagyobb kollagén térfogat arányt találtunk ($14.6 \pm 1.0\%$ vs. $22.4 \pm 2.2\%$, $P < 0.001$), míg a diasztolés szívelégtelen betegekben a szívizomsejtek passzív feszülése bizonyult magasabbnak (5.1 ± 0.7 vs. 8.5 ± 0.9 kN/m², $P = 0.006$). A diabéteses szisztolés szívelégtelen betegekben nagyobb mértékű AGEs lerakódást figyeltünk meg (8.8 ± 2.5 vs. 24.1 ± 3.8 score/mm²; $P = 0.005$), mint diasztolés szívelégtelen betegekben (8.2 ± 2.5 vs. 15.7 ± 2.7 score/mm², $P = \text{NS}$). **KÖVETKEZTETÉSEK:** Diabéteses betegekben a szívizom megnövekedett diasztolés feszüléséért eltérő mechanizmusok felelősek szisztolés és diasztolés szívelégtelenségben: szisztolés szívelégtelenségben elsősorban a fibrózis és az AGEs lerakódása, míg diasztolés szívelégtelenségben a szívizomsejtek kórosan emelkedett passzív feszülése játszhat szerepet.

Absztrakt (angol)

BACKGROUND: Excessive diastolic left ventricular stiffness is an important contributor to heart failure in patients with diabetes mellitus. Diabetes is presumed to increase stiffness through myocardial deposition of collagen and advanced glycation end products (AGEs). Cardiomyocyte resting tension also elevates stiffness, especially in heart failure with normal left ventricular ejection fraction (LVEF). The contribution to diastolic stiffness of fibrosis, AGEs, and cardiomyocyte resting tension was assessed in diabetic heart failure patients with normal or reduced LVEF. **METHODS AND RESULTS:** Left ventricular endomyocardial biopsy samples were procured in 28 patients with normal LVEF and 36 patients with reduced LVEF, all without coronary artery disease. Sixteen patients with normal LVEF and 10 with reduced LVEF had diabetes mellitus. Biopsy samples were used for quantification of collagen and AGEs and for isolation of cardiomyocytes to measure resting tension. Diabetic heart failure patients had higher diastolic left ventricular stiffness irrespective of LVEF. Diabetes mellitus increased the myocardial collagen volume fraction only in patients with reduced LVEF (from $14.6 \pm 1.0\%$ to $22.4 \pm 2.2\%$, $P < 0.001$) and increased cardiomyocyte resting tension only in patients with normal LVEF (from 5.1 ± 0.7 to 8.5 ± 0.9 kN/m², $P = 0.006$). Diabetes increased myocardial AGE deposition in patients with reduced LVEF (from 8.8 ± 2.5 to 24.1 ± 3.8 score/mm²; $P = 0.005$) and less so in patients with normal LVEF (from 8.2 ± 2.5 to 15.7 ± 2.7 score/mm², $P = \text{NS}$). **CONCLUSIONS:** Mechanisms responsible for the increased diastolic stiffness of the diabetic heart differ in heart failure with reduced and normal LVEF: fibrosis and AGEs are more important when LVEF is reduced, whereas cardiomyocyte resting tension is more important when LVEF is normal.

Sorszám

149. ifj.

Szerzők neve

Pankotai Eszter, Cselenyák Attila, Rátosi Orsolya, Lőrincz Judit, Weszl Miklós, Váczi Gabriella, Kollai Márk, Lacza Zsombor

Klinikai Kísérleti Kutató és Humán Élettani Intézet, Semmelweis Egyetem

Cím (magyar)

A mitokondriumok szerepe iszkémiában károsodott szívizomsejtek megmentésében

Cím (angol)

Neighboring healthy cells rescue cardiomyocytes from post-ischemic injury through a mitochondria-dependent process

Téma

Experimentális kardiológia (9)

Kulcsszavak

mitochondria, oxidative stress, ischemia-reperfusion

Típus

ifj. Előadás (10 perc + 5 perc vita)

Absztrakt (magyar)

Bevezetés: A mitokondriumok biztosítják a sejt működéséhez szükséges energiát, de szerepük a sejthalál folyamatában is bizonyított kóros folyamatokban, így iszkémia, szívelégtelenség és kardiomiopátia esetén is. Korábbi tanulmányok szerint két sejt között lehetséges a mitokondriumok kicserélődése, aminek a sejt energiahiányának helyreállításában lehet szerepe. Kísérleteinkben oxigén és glükóz egyidejű megvonásával (OGD) iszkémiás állapotot modelleztünk szívizomsejteken, majd azt vizsgáltuk, megmenthetők-e a károsodott sejtek egészséges szívizomsejtek hozzáadásával; illetve, hogy milyen szerepe lehet a mitokondriumoknak ebben a folyamatban. Módszerek: Vybrant DIO fluoreszcens festékkel jelölt patkány szívizomsejteket (H9C2) 2,5 órás OGD kezelésnek vetettük alá, majd Vybrant DID-del jelölt egészséges szívizomsejteket vagy etidium-bromiddal (EtBr) kezelt sejteket adtunk hozzájuk, és 24 óra múlva felvételeket készítettünk róluk konfokális mikroszkóppal. Az EtBr (50ng/ml, 30 napon át) a mitokondriális DNS-t károsítja. Az élők és a halott sejtek arányát sejtszámláló programmal határoztuk meg. Eredmények: Az egészséges H9C2 sejtek javították az OGD-n átesett szívizomsejtek túlélési arányát (11,5±4,2% vs. 56,9±20,6%, p<0,05), Az EtBr-al kezelt sejtek hozzáadását követően azonban a túlélő sejtek száma a kontroll szinthez hasonlóra csökkent (11,5±4,2% vs. 21,9±7,9%, p=0,51). Mito-tracker festékkel jelölt sejtekről készült nagyfelbontású felvételek azt mutatják, hogy a mitokondriumok közvetlen kapcsolatokon keresztül képesek átjutni egyik sejtbe a másikba. A sejt kultúrához kívülről adott izolált mitokondriumok nem épültek be a szívizomsejtekbe. Következtetés: Az egészséges sejtek képesek megmenteni az oxidatív stresszben károsodott szívizomsejtek nagy részét. Az egészséges mitokondriumok jelentős szerepet játszanak ebben a folyamatban az energiaszint visszaállításával a károsult sejtekben, vagy pedig a sérült mitokondriumokból felszabaduló sejthalálhoz vezető jelek gátlásával. OTKA D45933, T049621, AÖU 66öu5, Bolyai és Öveges Ösztöndíjak

Absztrakt (angol)

Background: Mitochondria are the sources of energy in cardiac cells and they are also responsible for initiating cell death in various pathologies such as ischemia-reperfusion injury, cardiomyopathy, and congestive heart failure. Previous studies showed that mitochondria may be swapped between two cells which may have a role in the restoration of cellular energy failure. In this study we mimicked ischemic injury using the oxygen-glucose deprivation model (OGD) and monitored if the addition of healthy or mitochondria-depleted cardiomyocytes can save OGD treated cells from post-ischemic injury. Methods: Vybrant DIO fluorescent-labeled rat cardiomyocytes (H9C2) were treated with OGD for 2.5 hours. Vybrant DID-labeled healthy or mitochondria-depleted cells were added after OGD and co-cultured for 24 hours. Mitochondria-depletion was achieved by pre-incubation of the cells with ethidium-bromide for one month (50ng/ml). Fluorescent microphotographs were taken by a confocal microscope and the live-dead cell ratio was calculated using a cell counter program. Results: Addition of healthy H9C2 cells significantly improved the survival of the OGD treated cells (11,5±4,2% vs. 56,9±20,6%, p<0,05). In case the rescue cells were depleted from their mitochondria pool, this effect was much less effective (11,5±4,2% vs. 21,9±7,9%, p=0,51). High-resolution confocal time-lapse imaging of cells stained with mito-tracker dyes indicated that mitochondria may be transferred from one cell to the other through direct contact. Addition of isolated mitochondria to the culture did not result in incorporation of the organelles into the cells. Conclusion: Addition of healthy cells to severely injured post-ischemic cardiomyocytes can rescue the majority of cells from death. Healthy mitochondria play a crucial role in this process either by restoring energy levels in the dying cells or by inhibiting cell death signals of damaged mitochondria. Supported by OTKA D45933, T049621, AÖU 66öu5, Bolyai and Öveges Fellowships.

Sorszám

155.

Szerzők neve

Prorok János, Nagy Norbert, Kormos Anita, Acsai Károly, Papp Gyula, Varró András, Tóth András

SZTE, ÁOK, Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet; MTA Keringéscsökkentő Farmakológiai Kutatócsoport, Szeged

Cím (magyar)

A Na⁺/Ca²⁺ cseremechanizmust blokkoló SEA0400 hatása intracelluláris Ca²⁺ koncentráció függő kutya balkamrai szívizomsejtekben

Cím (angol)

The effect of the NCX inhibitor SEA0400 is intracellular Ca²⁺ level dependent in canine ventricular myocytes.

Téma

Experimentális kardiológia (9)

Kulcsszavak

Na⁺/Ca²⁺ exchanger, NCX inhibitor, SEA0400, calcium transient, dog ventricular myocytes

Típus

Előadás (10 perc + 5 perc vita)

Absztrakt (magyar)

Bevezetés: Patch clamp kísérletekben megállapítottuk, hogy a szelektív NCX gátló SEA0400, alacsony [Ca²⁺]_i szint mellett 1 μM koncentrációban hatásosan (50-80%) blokkolja az NCX áramot. Ugyanakkor a [Ca²⁺]_i transziensben és kontrakcióban várt jelentős változásokat nem észleltük sem izolált kontraháló szívizomsejteken sem perfundált szíven. Az ellentmondásos eredmények egyik lehetséges magyarázata, hogy az NCX gátlás mértéke a szív ciklus során nem állandó. Ezért jelen munkánk célja az volt, hogy meghatározzuk a SEA0400 NCX gátló hatásának intracelluláris kalcium függését. Módszerek: Patch clamp kísérletekben az NCX áramot nikkel-szenzitív áramként határoztuk meg pipetta oldatokkal beállított 55, 140, 500 és 1000 nM [Ca²⁺]_i szintek mellett. Egy másik kísérletsorozatban a koffein-indukált [Ca²⁺]_i transziens relaxációjának SEA0400 hatására történő megnyúlását mértük, és a gátlás mértékét a kontroll, a SEA0400 kezelt és a Ni²⁺-gátolt koffein transziens relaxációs kinetikájának összehasonlításából határoztuk meg. Az [Ca²⁺]_i változásait Fluo-4 festékkel monitoroztuk, a sejtrövidülést -video edge- detektorral követtük. Eredmények: 1 μM SEA0400 mind az inward, mind az outward NCX áramot [Ca²⁺]_i függő módon blokkolta (55 nM [Ca²⁺]_i esetén 60-80%-kal, míg 1 μM [Ca²⁺]_i mellett 28-40%-kal). Azaz a gátló hatás ~50%-al csökkent a diasztolés értékről szisztolés értékre növekedett [Ca²⁺]_i szintek esetén. A koffein transziens relaxációs időállandója ugyancsak megnőtt (1.03±0.05-ről 1.32±0.06-ra), de jelentősen elmaradt a 10 mM Ni²⁺ jelenlétében tapasztalt növekedéstől (fél relaxációs idő: 1.3±0.1 s-ről 10.1±1.3 s-ra). Következtetések: Eredményeink bizonyítják, hogy a SEA0400 NCX-re gyakorolt blokkoló hatása erősen függ a pillanatnyi [Ca²⁺]_i értékétől és szignifikánsan alacsonyabb szisztolés, mint diasztolés kalcium koncentrációk esetén. Ez a Ca-függés jól magyarázza a gátlószert viszonylag kismértékű hatását az intracelluláris kalcium homeosztázisra.

Absztrakt (angol)

Background: In previous patch clamp experiments we found that in 1 μM concentration SEA0400, a selective NCX inhibitor, effectively blocks NCX current at low [Ca²⁺]_i levels (50-80%). The expected major shifts in [Ca²⁺]_i transient and contractility, however, were not observed in isolated paced cardiomyocytes or perfused hearts. A feasible explanation for these controversial results may be, that the level of blockade is modulated during cardiac cycle. The aim of this study was to evaluate the calcium dependence of the inhibitory effect of SEA0400 in canine ventricular myocytes. Methods: In patch clamp experiments the NCX current was determined as the Ni²⁺ sensitive current at four (55, 140, 500, 1000 nM [Ca²⁺]_i) pipette solutions. In other set of measurements the lengthening effect of SEA0400 on the recovery of the caffeine induced [Ca²⁺]_i elevation was determined. The level of inhibition was calculated by comparing the recovery kinetics of caffeine transients from control, SEA0400-treated and Ni²⁺-blocked cardiomyocytes. [Ca²⁺]_i transients were monitored by Fluo-4. Cell shortening was recorded by a video edge detector. Results: 1 μM SEA0400 suppressed both inward and outward exchange currents in a Ca-dependent fashion (from 60% & 80% at 55 nM to 28% & 40% at 1000 nM, respectively). Thus, the blocking effect was reduced by ~50% increasing [Ca²⁺]_i from diastolic to systolic level. The rate of decay of the caffeine transient was also decreased substantially (decay time constant increased from 1.03±0.05 to 1.32±0.06 s), but much less than that by 10 mM NiCl₂ (half relaxation time increased from 1.3±0.1 to 10.1±1.3 s). Conclusions: Our results suggest, that the blocking effect of SEA0400 on NCX is strongly dependent on the momentary value of [Ca²⁺]_i, being significantly lower at systolic than at diastolic levels. This dependence can well explain its relatively minor functional effects on intracellular calcium handling in canine myocytes.

Sorszám

Szerzők neve

Szabó Gergely, Szabó Adrienn, Norbert Szentandrassy, Birinyi Péter, Horváth Balázs, Bányász Tamás, Márton Ildikó, Nánási Péter Pál, Magyar János
Debreceni Egyetem OEC Élettani Intézet; Debreceni Egyetem OEC Fogászati Klinika

Cím (magyar)

Az articaín elektrofiziológiai sajátosságai izolált szívizom sejteken

Cím (angol)

Cardiac electrophysiological profile of articaine

Téma

Experimentális kardiológia (9)

Kulcsszavak

local anaesthetics, articaine, cardiomyocytes, action potential, ion currents

Típus

Előadás (10 perc + 5 perc vita)

Absztrakt (magyar)

Háttér: Széleskörű fogászati aneszteziológiai alkalmazása ellenére kevés információnk van az articain (Ultracain) szívizomsejtekre kifejtett hatásáról. Jelen kísérletben az articain koncentrációfüggő hatásait vizsgáltuk az akciós potenciál morfológiára és az azt kialakító ionáramokra, kutya kamrai szívizom sejteken. Módszerek: A szív enzimatisz emésztése után hegyes mikroelektroda technikával mértük az izolált sejtek akciós potenciáljait. Az articain ionáramokra kifejtett hatásának vizsgálatára hagyományos patch clamp és akciós potenciál clamp technikát használtunk. Eredmények: Az articain koncentráció függő módon rövidítette az akciós potenciál időtartamát (APD), csökkentette amplitudóját (APA) és a depolarizáció maximális sebességét (V_{max}), gátolta a korai repolarizációt és deprimálta a plátót. A V_{max} gátlás EC_{50} értéke $162 \pm 30 \mu M$ -nak adódott. Feszültség clamp körülmények között mérve a következő ionáramokat gátolta az articain: ICa ($EC_{50} = 471 \pm 75 \mu M$), I_{to} ($EC_{50} = 365 \pm 62 \mu M$), $IK1$ ($EC_{50} = 372 \pm 46 \mu M$), IKr ($EC_{50} = 278 \pm 79 \mu M$), és IKs ($EC_{50} = 326 \pm 65 \mu M$). Az ioncsatornákon az articainnak egy kötőhelye lehet, amit a Hill koefficiens egyhez közeli értéke jelez, kivéve az $IK1$ esetében. Konklúzió: Az articain csak a terápiás tartománynál nagyobb koncentrációk esetében módosította jelentősen a szív akciós potenciálját és az ionáramokat, ami csak túladagolás esetén képzelhető el. Mivel az articain félhatásos koncentrációi azonos nagyságrendbe esnek a kifelé és a befelé irányuló ionáramok esetén, az akciós potenciál morfológia intoxikáció esetén sem változik számottevően.

Absztrakt (angol)

Background: In spite of its widespread clinical application of articaine there is little information on the cellular cardiac effects of the drug. In the present study, therefore, the concentration-dependent effects of articaine on action potential morphology and the underlying ion currents were studied in isolated canine ventricular cardiomyocytes. Methods: Action potentials were recorded from the enzymatically dispersed cells using sharp microelectrodes. Conventional patch clamp and action potential voltage clamp arrangements were used to study the effects of articaine on the transmembrane ion currents. Results: Articaine induced concentration-dependent changes in action potential configuration including shortening of the action potentials, reduction of their amplitude and maximum velocity of depolarization (V_{max}), suppression of early repolarization and depression of plateau. The EC_{50} value obtained for the V_{max} block was $162 \pm 30 \mu M$. Under voltage clamp conditions a variety of ion currents were blocked by articaine: ICa ($EC_{50} = 471 \pm 75 \mu M$), I_{to} ($EC_{50} = 365 \pm 62 \mu M$), $IK1$ ($EC_{50} = 372 \pm 46 \mu M$), IKr ($EC_{50} = 278 \pm 79 \mu M$), and IKs ($EC_{50} = 326 \pm 65 \mu M$). The Hill coefficients were close to unity indicating a single binding site for articaine, except for $IK1$. Conclusions: Articaine can modify cardiac action potentials and ion currents at concentrations higher than the therapeutic range which can be achieved only by overdose. Since its suppressive effects on the inward and outward currents are relatively well balanced, the articaine-induced changes on action potential morphology can be moderate even in case of intoxication.