

Omega-3 polyunsaturated fatty acids affect arrhythmogenic factors and attenuate susceptibility of the heart to malignant arrhythmias in an experimental model of human essential hypertension

Omega-3 polynenasýtené mastné kyseliny ovplyvňujú arytmogénne faktory a znižujú náchylnosť srdca k malígnym arytmiám v experimentálnom modeli ľudskej esenciálnej hypertenzie

Radošinská J^{1,2}, Bačová B¹, Knezl V³, Beňová T¹, Zurmanová J⁴, Soukup T⁵, Arnoštová P⁴, Slezák J¹, Gonçalvesová E⁶, Tribulová N¹

¹Ústav pre výskum srdca SAV, Bratislava, ²Fyziologický ústav LF UK Bratislava, Slovenská republika

Radosinska J, Bacova B, Knezl V, Benova T, Zurmanova J, Soukup T, Arnostova P, Slezak J, Goncalvesova E, Tribulova N. **Omega-3 polyunsaturated fatty acids affect arrhythmogenic factors and attenuate susceptibility of the heart to malignant arrhythmias in an experimental model of human essential hypertension.** Cardiology Lett. 2014;23(1):10–16

Abstract. *Objective:* Hypertension-induced myocardial remodelling is known to be associated with increased risk of malignant arrhythmias and alterations in electrical coupling protein, connexin-43 (Cx43), may be involved in the pathogenesis. We investigated whether omega-3 fatty acids intake affects abnormalities of Cx43 as well as protein kinase C (PKC) signalling and myosin heavy chain (MyHC) profile at the early and late stage of hypertension in the context of the heart's susceptibility to ventricular fibrillation and ability to restore sinus rhythm.

Methods: Untreated young and old male spontaneously hypertensive rats (SHRs) and age-matched normotensive rats were compared with animals supplemented by omega-3 (eicosapentanoic acid + docosahexanoic acid, 200 mg/kg body weight/day) for 2 months. Left ventricular tissues were taken for examination of subcellular integrity of gap junctions, Cx43 mRNA and protein expression, PKC-epsilon and PKC-delta as well as MyHC determination. Electrically inducible ventricular fibrillation and sinus rhythm restoration (SRR) were examined on Langedorff-perfused heart preparation.

Results: Omega-3 intake significantly reduced cardiovascular risk factors, suppressed inducible ventricular fibrillation, and facilitated SRR in hypertensive rats. Supplementation attenuated lateralization and internalization of Cx43, suppressed elevated Cx43 mRNA, enhanced total Cx43 protein expression and/or expression of its functional phosphorylated forms as well as the expression of cardioprotective PKC-epsilon and suppressed proapoptotic PKC-delta isoform. Moreover, the omega-3 diet normalized MyHC profiles in SHR at early stage of disease and old nonhypertensive rats.

Z ¹Ústavu pre výskum srdca SAV, Bratislava, Slovenská republika, ²Fyziologického ústavu LF UK, Bratislava, Slovenská republika, ³Ústavu experimentálnej farmakológie a toxikológie SAV, Bratislava, Slovenská republika, ⁴Katedry fyziológie Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze, Česká republika, ⁵Fyziologického ústavu AV ČR, Praha, Česká republika a ⁶Národního ústavu srdečních a cévních chorob, Bratislava, Slovenská republika

Do redakcie prišlo dňa 7. októbra 2013; prijaté dňa 29. októbra 2013

Adresa pre korešpondenciu: Jana Radošinská, Fyziologický ústav LF UK, Bratislava, Sasinkova 2, 813 72 Bratislava, Slovenská republika
e-mail: jana.radosinska@fmed.uniba.sk

Primárna práca bola publikovaná v plnom rozsahu v: Radosinska J, Bacova B, Knezl V, Benova T, Zurmanova J, Soukup T, Arnostova P, Slezak J, Goncalvesova E, Tribulova N. Dietary omega-3 fatty acids attenuate myocardial arrhythmogenic factors and propensity of the heart to lethal arrhythmias in a rodent model of human essential hypertension. J Hypertens. 2013 Sep;32(9):1876-1885.

Conclusion: Findings suggest that amelioration of myocardial Cx43-related abnormalities, positive modulation of PKC pathways, and normalization of MyHC can significantly contribute to the antiarrhythmic effects of omega-3 in rat model mimicking human essential hypertension. Our results support the prophylactic use of omega-3 to minimize cardiovascular risk and sudden arrhythmic death. Fig. 6, Ref. 18, Online full text (Free, PDF) www.cardiology.sk

Key words: spontaneously hypertensive rat – gap-junction – connexin-43 – omega-3 polyunsaturated fatty acids – malignant arrhythmias

Radošinská J, Bačová B, Knežl V, Beňová T, Zurmanová J, Soukup T, Arnoštová P, Slezák J, Gonçalvesová E, Tribulová N. **Omega-3 polynenasýtené mastné kyseliny ovplyvňujú arytmogénne faktory a znižujú náchylnosť srdca k malígnym arytmiám v experimentálnom modeli ľudskej esenciálnej hypertenzie.** *Cardiology Lett.* 2014;23(1):10–16

Abstrakt. Zámer: Vieme, že hypertenziu vyvolaná srdcová remodelácia sa spája so zvýšeným rizikom malígnych arytmií, pričom v ich patogenéze sa môžu zúčastňovať zmeny konexínu 43 (Cx43) – proteínu, z ktorého sú formované medzibunkové konexínové kanály, ktoré zabezpečujú synchronizovaný prenos elektrického signálu myokardom. Skúmali sme, či príjem omega-3 mastných kyselín môže ovplyvniť abnormality Cx43, ako aj vybraných proteínkináz C (PKC) a taktiež profil ťažkých reťazcov myozínu (MyHC) v začiatkoch a neskorom štádiu hypertenzie v súvislosti s citlivosťou srdca ku komorovej fibrilácii a schopnosti obnoviť sínusový rytmus.

Metódy: Mladé i staré samce spontánne hypertenzných potkanov (SHR) a normotenzných potkanov s príjmom štandardnej laboratórnej stravy boli porovnané so zvieratami, ktorým sa pridávali do stravy omega-3 (eikozapentanénová – EPA, dokosahexanénová – DHA) mastné kyseliny (200 mg/kg telesnej hmotnosti/deň) počas dvoch mesiacov. Tkanivo ľavej komory srdca bolo odobraté kvôli sledovaniu subcelulárnej integrity gap-junctions, lokalizácie Cx43, expresie Cx43 na úrovni transkripcie aj proteínu, expresie PKC epsilon a PKC delta, rovnako ako aj stanoveniu profilu MyHC. Langendorfov model izolovaného perfundovaného srdca sa použil na skúmanie náchylnosti srdca na elektricky vyvolanú komorovú fibriláciu a meranie času potrebného na obnovenie sínusového rytmu.

Výsledky: Konzumácia omega-3 významne znížila incidencia komorovej fibrilácie a zlepšila schopnosť návratu do sínusového rytmu u SHR. Omega-3 suplementácia redukovala remodeláciu Cx43 v ľavej komore srdca, zlepšovala integritu kardiomyocytov, potlačila zvýšenú expresiu mRNA pre Cx43 u starých SHR, zvýšila expresiu celkového Cx43 a jeho funkčných fosforylovaných foriem, ako aj kardioprotektívnej PKC epsilon a potlačila proapoptotickú PKC delta. Navyše omega-3 diéta normalizovala profil MyHC u SHR v ranom štádiu ochorenia a u starých normotenzných potkanov.

Záver: SHR v skorom aj pokročilom štádiu hypertenzie profitovali z konzumácie omega-3 PUFA najmä v dôsledku poklesu incidence komorovej fibrilácie a lepšej schopnosti návratu do sínusového rytmu. Tieto antiarytmické účinky omega-3 PUFA sa dajú prinajmenšom čiastočne vysvetliť potlačením remodelácie gap-junctions, normalizáciou distribúcie Cx43, jeho proteínovej expresie, ako aj fosforylácie. Výsledky tejto štúdie podporujú profylaktické použitie omega-3 PUFA na zníženie kardiovaskulárneho rizika a incidence malígnych arytmií u hypertenzných jedincov. Obr. 6, Lit. 18, Online full text (Free, PDF) www.cardiology.sk

Kľúčové slová: spontánne hypertenzný potkan – gap-junction – konexín 43 – omega-3 polynenasýtené mastné kyseliny – malígne aritmie

Etiológia hypertenzie je multifaktoriálna a vznik esenciálnej hypertenzie, ktorá v ľudskej populácii narastá, je podmienený prevažne geneticky. Hypertenziu vyvolaná srdcová remodelácia predstavuje v iničiálnom štádiu kompenzačný mechanizmus. Avšak pretrvávajúca hypertenzia vedie k maladaptívnym zmenám, ktoré sú spojené so zvýšeným rizikom náhle arytmickej smrti a srdcového zlyhania u ľudí, ako aj u zvierat (1). Spontánne hypertenzný potkan (SHR) sa používa na skúmanie vplyvu hypertenzie a jej dôsledkov na srdce a cievy, ako aj na testovanie látok s antihypertenznými účinkami. SHR model je osobitne atraktívny spomedzi ostatných animálnych modelov, pretože imituje klinický vývoj, ktorý je spoločný pre väčšinu hypertenzných pacientov. Začiatkový vývoj hypertenzie vedie ku kompenzačnému zvýšeniu inotropie približne po šiestich

mesiacoch života. V 18 až 24 mesiacoch života srdce začína zlyhávať, čo zahŕňa jeho zníženú kontrakčnú funkciu a zvýšený výskyt fibróz v myokarde (2).

Naše predchádzajúce práce, ako aj práce iných autorov dokazujú, že jednou z nežiaducich zmien vyvolaných hypertenziou aj u ľudí je remodelácia myokardiálnych gap-junctions (3 – 6). Gap-junctions sú miestom, v ktorom sú sústredené medzibunkové konexínové kanály zložené z podjednotiek – konexínov. Konexínové kanály zabezpečujú prenos akčného potenciálu medzi susediacimi kardiomyocytmi a sprostredkujú tiež priamu medzibunkovú komunikáciu, t. j. transport iónov a nízkomolekulárnych signálnych látok (7). Dominantnou izoformou konexínu v komorovom myokarde je konexín 43 (Cx43) a pre funkciu kanálov je nevyhnutné, aby bol vo

fosforylovanom stave. Regulácia (otváranie, respektíve zatváranie) týchto kanálov sa riadi viacerými mechanizmami, medzi ktoré patrí intracelulárna acidóza, preťaženie bunky vápnikom, akumulácia voľných radikálov, ako aj fosforylácia Cx43 (8, 9, 10). Procesy, ktoré inhibujú Cx43 kanály (zvýšená koncentrácia iónov vodíka a vápnika, akumulácia voľných radikálov), prebiehajú aj v srdci hypertenzných jedincov, pričom výrazná inhibícia Cx43 kanálov zapríčiní poruchu v prenose elektrického vzruchu a medzibunkovej komunikácie. Takýto stav potencie elektrickú nestabilitu myokardu v dôsledku zvýšenej ektoptickej aktivity, disperzií repolarizácie (trvania akčného potenciálu) a spomalenia až zablokovania šírenia vzruchu (11). Funkcia konexínového kanála závisí od fosforylovaného stavu konexínu. Jednou z proteín kináz, ktoré priamo fosforylujú Cx43 je proteín kináza C (PKC) epsilon (12). V práci sa sledovala aj izoforma PKC delta, ktorá je zapojená do signálnych dráh indukujúcich apoptózu kardiomyocytov, ich zánik a fibrotizáciu myokardu (13). Hypertrofiu ľavej komory sprevádzajú aj zmeny v zastúpení jednotlivých izoform MyHC. Popísaná bola súvislosť medzi dominantnou izoformou MyHC a náchylnosťou srdca k vyvolaniu pretrvávajúcej komorovej fibrilácii (14).

Ochorenia kardiovaskulárneho systému (KVO) sú stále najčastejšou príčinou úmrtí na celom svete. Preventívne opatrenia a predovšetkým zmeny stravovania môžu mať veľký vplyv na ľudské zdravie. Jedným z takýchto diétnych opatrení je zvýšený príjem omega-3 polynenasýtených kyselín (omega-3 PUFA) (15). Sú to látky prítomné v bunkových membránach a ich deficit nepriaznivo ovplyvňuje ich vlastnosti. Údaje z klinických a experimentálnych štúdií podporujú hypotézu, že konzumácia omega-3 PUFA, t. j. EPA a DHA znižuje riziko KVO a náhle kardiálnej smrti (16, 17). Na základe vedeckých dôkazov bol navrhnutý nový rizikový faktor pre náhlu kardiálnu smrť, omega-3 index, ktorý predstavuje percento EPA + DHA v membránach červených krviniek (16). Tento index sa znížil u SHR náchylných na komorovú fibriláciu, kým jeho zvýšenie po konzumácii omega-3 PUFA sa spájalo s nižším výskytom tejto malígnej arytmie (18).

Napriek pribúdajúcim poznatkom konsenzus vzhľadom na vplyv omega-3 PUFA na srdcový rytmus stále nebol dosiahnutý. Zámerom tejto práce bolo odhaliť nové mechanizmy antiarytmických účinkov omega-3 PUFA a poukázať na možnú účasť Cx43 kanálov pri ochrane hypertenziou poškodeného srdca proti malígnym arytmiám.

Metodika

Experimenty sa robili na mladých SHR, ktoré sú vhodné na sledovanie skorých (do šiestich mesiacov veku potkanov) hypertenziou indukovaných zmien (kompenzovaný stav hypertenzie), ako aj zmien maladaptívnych (prechod do dekompenzácie) u starších (po jednom roku života) potkanov. Použili

sa samce štvormesačných a 12-mesačných potkanov kmeňa SHR a tiež rovnako staré normotenzné potkany. Celkový počet zvierat bol 64, v každej skupine bolo 16 zvierat. Zvieratá zo všetkých skupín boli rozdelené do dvoch podskupín. Polovici zvieratám ($n = 8$) boli dva mesiace podávané omega-3 PUFA (Vesteralens, Nórsko) v dávke 200 mg/kg telesnej hmotnosti/deň. Na začiatku a konci pokusu sa zaznamenali vybrané biometrické a biochemické parametre. Tkanivo ľavej komory srdca bolo na konci pokusu postúpené na elektrónovú mikroskopiu na stanovenie subcelulárnej lokalizácie gap-junctions, ďalej na real time PCR na stanovenie mRNA pre Cx43, na imunofluorescenciu pre vizualizáciu distribúcie Cx43, western blot analýzu na určenie proteínovej expresie Cx43, PKC epsilon a PKC delta, ako aj na kvantifikáciu jednotlivých izoform MyHC. Langendorfov model izolovaného perfundovaného srdca sa použil na zisťovanie citlivosti na elektricky vyvolanú komorovú fibriláciu a meranie času potrebného na návrat k sínusovému rytmu.

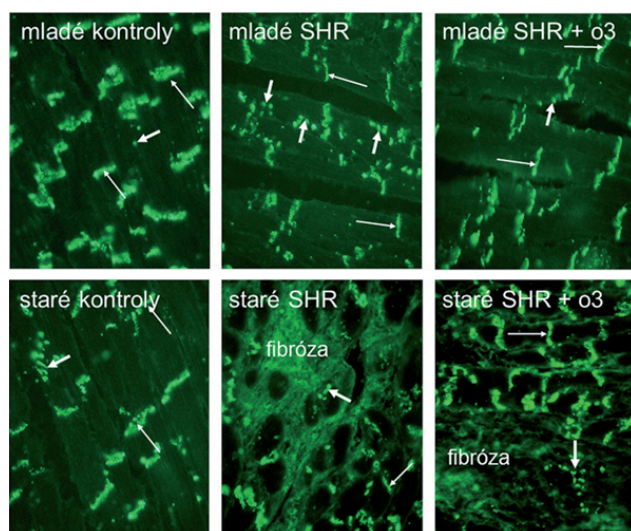
Výsledky

Základná charakteristika experimentálnych zvierat

Mladé aj staré SHR mali signifikantne vyšší tlak krvi v porovnaní s rovnako starými normotenznými potkanmi. Navyše, obidve skupiny SHR mali zníženú hmotnosť tela (BW), zvýšenú hmotnosť srdca (HW), ľavej komory srdca (LVW), ako aj pomerov HW/BW a LVW/BW v porovnaní s nehypertenznými kontrolami. Staré SHR mali zvýšenú hladinu celkového cholesterolu. Podávanie omega-3 PUFA štatisticky významne znížilo tlak krvi, plazmatické hladiny celkového cholesterolu a triacylglycerolov u starých SHR.

Subcelulárna lokalizácia gap-junctions a integrita kardiomyocytov

Elektrónová mikroskopia v normotenzných mladých srdciach preukázala konvenčnú (end-to-end) lokalizáciu gap-junction prevažne v interkalárnych diskoch v blízkosti fascia adherens. Iba malý počet gap-junction bol pozorovaný na laterálnych (side-to-side) stranách kardiomyocytov v susedstve dezmozómov. U starých normotenzných potkanov bolo sporadicky možné pozorovať internalizované gap-junctions určené na degradáciu. Na rozdiel od myokardu ľavej komory normotenzných zvierat, u mladých aj starých SHR bol pozorovaný zvýšený počet dlhých laterálnych gap-junction v hypertrofovaných kardiomyocytoch a takisto častejší výskyt internalizovaných gap-junctions. Pre myokard SHR potkanov bola takisto typická heterogenita populácie kardiomyocytov, t. j. normálne kardiomyocyty, kardiomyocyty preukazujúce známky hypertrofie a poškodené kardiomyocyty, aké sa vyskytujú pri ischémii. V skupine starých SHR bolo taktiež



Obrázok 1 Reprezentatívne fotografie myokardiálnej distribúcie Cx43 pozitívneho signálu. Dlhé šípky: lokalizácia Cx43 v interkalárnych diskoch, krátke šípky: lateralizácia Cx43

Figure 1 Representative photographs of myocardial Cx43 distribution. Long arrows: conventional immunofluorescence labelling of Cx43 at the intercalated discs, thick arrows: lateralization of the Cx43.

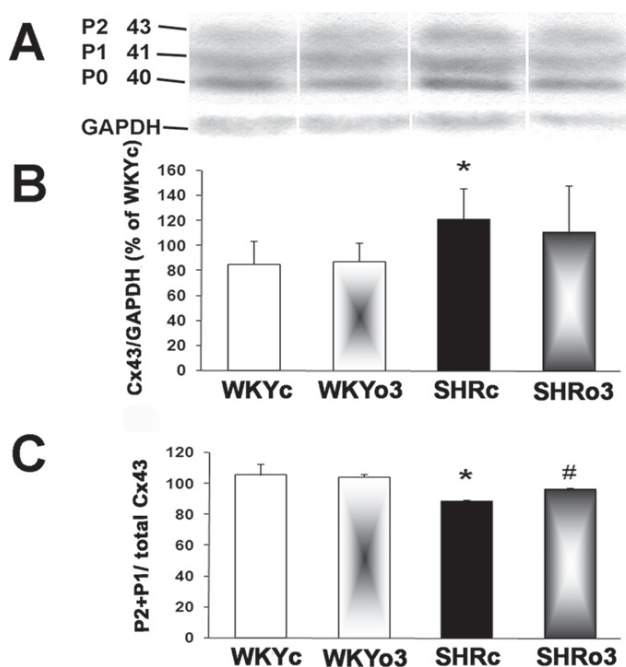
rozšírenie extracelulárneho priestoru s depozitmi kolagénu. Prijem omega-3 PUFA potlačil remodeláciu gap-junction, t. j. znížila sa lateralizácia a internalizácia gap-junction u oboch – mladých aj starých SHR. Ďalej sa pozorovalo zlepšenie integrity kardiomyocytov (najmä mitochondrií), redukcia štrukturálnej heterogenity kardiomyocytov a redukcia extracelulárnych depozitov kolagénu u starých SHR.

Myokardiálna distribúcia Cx43

V myokarde mladých normotenzných potkanov sme pozorovali fyziologickú distribúciu Cx43 – prevažne v interkalárnych diskoch a iba zriedkavo na laterálnych stranách kardiomyocytov. U starých normotenzných potkanov bola intenzita imunofluorescenčného signálu nižšia, ale maximum Cx43 bolo stále sústredené do oblasti interkalárnych diskov. U mladých aj starých SHR sa pozorovali príznaky hypertrofie s typickou lateralizáciou Cx43. U starých SHR boli prítomné aj početné oblasti fibróz, pre ktoré je charakteristická úplná dezorganizácia imunofluorescenčného signálu Cx43. Podávanie omega-3 PUFA potlačilo lateralizáciu Cx43 a u starých SHR aj fibrotizáciu myokardu (**obrázok 1**).

Expresia Cx43 na úrovni mRNA a proteínu a jeho fosforylovaný stav

Nezistili sa žiadne štatisticky významné rozdiely v hladinách mRNA pre Cx43 medzi skupinami mladých potkanov.



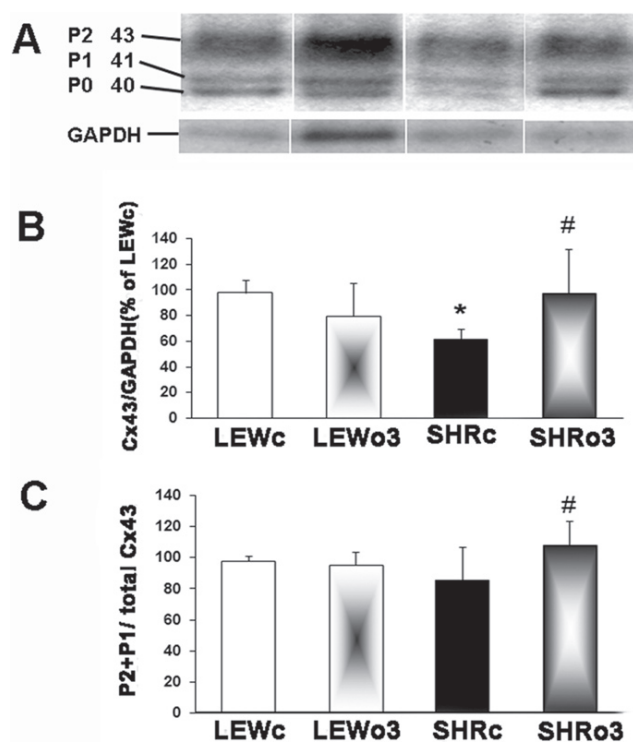
Obrázok 2 Reprezentatívny western blot expresie Cx43 v myokarde ľavej komory srdca (A), kvantitatívne vyhodnotenie celkovej expresie Cx43 normalizované proteínom GAPDH (B) a kvantitatívne vyhodnotenie pomeru fosforylovaných foriem k celkovému Cx43 u mladých normotenzných potkanov (WKY) a SHR neliečených (príp. c), ako aj liečených s omega-3 PUFA (príp. o3).

Figure 2 Representative western blot showing protein expression of Cx43 in the left ventricle of the young rat hearts (A), quantitative analysis of total Cx43 expression normalized to GAPDH (B) and quantitative analysis of the ratio P1+P2 to total Cx43 in young normotensive rats (WKY) and SHR untreated (suffix c) as well as treated with omega-3 PUFA (suffix o3).

P0 – nefosforylovaný Cx43 (unphosphorylated Cx43), P1 – čiastočne fosforylovaný Cx43 (partially phosphorylated Cx43), P2 – fosforylovaný Cx43 (fully phosphorylated Cx43), GAPDH – glyceraldehyd 3-fosfát dehydrogenáza (glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase)

Výsledky reprezentujú priemer $\pm$ SD. Štatistická významnosť: * $p < 0,05$, versus WKYc, # $p < 0,05$ versus SHRc. (Results are mean $\pm$ SD. Significant difference: * $p < 0,05$, versus WKYc, # $p < 0,05$ versus SHRc).

U starých SHR bola úroveň transkripcie vyššia v porovnaní s rovnako starými normotenznými potkanmi a po podávaní omega-3 PUFA normalizovaná. Wester blot analýza odhalila tri izoformy Cx43, ktoré zodpovedajú dvom funkčným fosforylovaným a jednej nefosforylovanej forme proteínu Cx43 vo všetkých experimentálnych skupinách. V porovnaní s normotenznými kontrolami, expresia Cx43 bola u mladých SHR zvýšená a u starých SHR znížená. Staré SHR mali navyše aj zníženú expresiu funkčnej fosforylovanej formy Cx43. Mladé SHR sa vyznačovali poklesom zastúpenia fosforylovanej formy Cx43 z celkového Cx43. Prísun omega-3 PUFA v strave zvýšil zastúpenie fosforylovaného Cx43 u mladých, ako aj starých SHR, u ktorých súčasne zvyšoval aj expresiu celkového a fosforylovaného Cx43 (**obrázok 2** – mladé potkany, **obrázok 3** – staré potkany).



Obrázok 3 Reprezentatívny western blot expresie Cx43 v myokarde ľavej komory srdca (A), kvantitatívne vyhodnotenie celkovej expresie Cx43 normalizované proteínom GAPDH (B) a kvantitatívne vyhodnotenie pomeru fosforylovaných foriem k celkovému Cx43 u starých normotenzných potkanov (LEW) a SHR neliečených (príp. c), ako aj liečených s omega-3 PUFA (príp. o3)

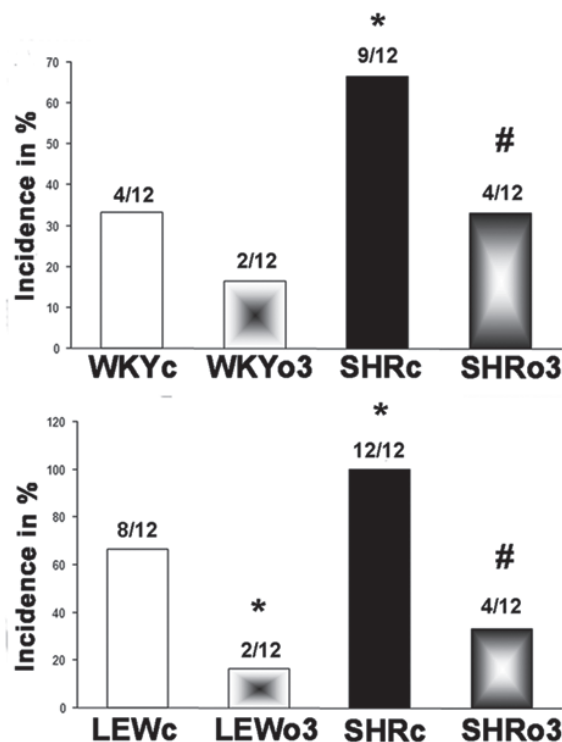
Figure 3 Representative western blot showing protein expression of Cx43 in the left ventricle of the old rat hearts (A), quantitative analysis of total Cx43 expression normalized to GAPDH (B) and quantitative analysis of the ratio P1+P2 to total Cx43 in old normotensive rats (LEW) and SHR untreated (suffix c) as well as treated with omega-3 PUFA (suffix o3).

P0 – nefosforylovaný Cx43 (unphosphorylated Cx43), P1 – čiastočne fosforylovaný Cx43 (partially phosphorylated Cx43), P2 – fosforylovaný Cx43 (fully phosphorylated Cx43), GAPDH – glyceraldehyd 3-fosfát dehydrogenáza (glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase)

Výsledky reprezentujú priemer $\pm$ SD. Štatistická významnosť: * $p < 0,05$, versus LEWc, # $p < 0,05$ versus SHRc. (Results are mean $\pm$ SD. Significant difference: * $p < 0.05$, versus LEWc, # $p < 0.05$ versus SHRc).

Expresia PKC epsilon a PKC delta v myokarde ľavej komory srdca

V porovnaní s normotenznými potkanmi, expresia PKC epsilon sa významne znížila u oboch vekových skupín SHR a zvýšila po prísune omega-3 PUFA. Neboli zistené rozdiely v expresii PKC delta medzi mladými normotenznými potkanmi a mladými SHR. Suplementácia omega-3 PUFA znížila expresiu PKC delta u oboch skupín mladých potkanov – normotenzných aj SHR. Staré SHR naproti tomu preukazovali výrazne vyššiu expresiu PKC delta, ktorá bola po príjme omega-3 PUFA normalizovaná.



Obrázok 4 Incidencia elektricky indukovanej komorovej fibrilácie na izolovaných perfundovaných srdciach u mladých potkanov (WKY), starých potkanov (LEW) a SHR neliečených (príp. c), ako aj liečených s omega-3 PUFA (príp. o3)

Figure 4 Incidence of electrically induced ventricular fibrillation on isolated perfused hearts in young normotensive rats (WKY), old normotensive rats (LEW) and SHR untreated (suffix c) as well as treated with omega-3 PUFA (suffix o3).

Štatistická významnosť: * $p < 0,05$, versus WKYc (resp. LEWc), # $p < 0,05$ versus SHRc. [Significant difference: * $p < 0.05$, versus WKYc (LEWc respectively), # $p < 0.05$ versus SHRc].

Myokardiálny profil MyHC

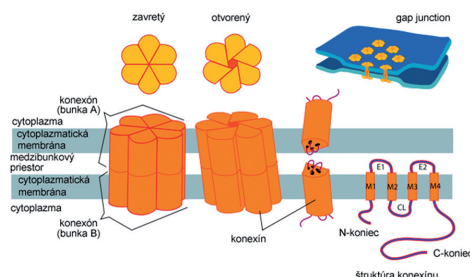
Pre ľavú komoru srdca mladých normotenzných potkanov bolo charakteristické dominantné zastúpenie (asi 90 %) α izoformy MyHC (MyHC α) a iba 10 % β izoformy MyHC (MyHC β). Tento fyziologický profil bol u mladých SHR zmenený, t. j. znížila sa expresia MyHC α a zvýšila izoforma MyHC β . Obidve izoformy boli približne na rovnakej úrovni. Príjem omega-3 PUFA u mladých SHR obnovil normálny profil MyHC. Na rozdiel od mladých, staré normotenzné potkany preukazovali abnormálne zloženie MyHC profilu charakterizované potlačením MyHC α a zvýšením MyHC β . Vekom sa teda profil MyHC izoformami zhoršuje, čo má za následok zníženie kontraktility myokardu. K výraznej zmene s postupujúcim vekom došlo u starých SHR, u ktorých bol obraz úplne opačný, t. j. 80 % MyHC β a iba 20 % MyHC α . Zmeny u starých SHR sa podávaním omega-3 PUFA nezmiernili.

Funkčná elektrická a metabolická komunikácia prostredníctvom medzibunkových konexínových kanálov (Cx43) v „gap-junction“ zabezpečuje synchronizovanú činnosť myokardu, ktorá je nevyhnutná pre správne fungovanie srdca

Hypertenzia

Remodelácia myokardu ↔ Zmeny Cx43

Arytmie



Experimentálny model: **SHR-spontánne hypertenzný potkan**

Mladé SHR – model kompenzovanej hypertrofie myokardu

Staré SHR – prechod do srdcového zlyhávania, dekompenzácia hypertrofie myokardu

Omega-3 polynenasýtené mastné kyseliny

- epidemiologické dáta – poskytujú dôkazy o nepriamo úmernej závislosti medzi konzumáciou mastných rýb a úmrtnosťou na kardiovaskulárne ochorenia
- stále nebol dosiahnutý vedecký konsenzus ohľadne vplyvu omega-3 PUFA na srdcový rytmus

Zhrnutie I Summary I

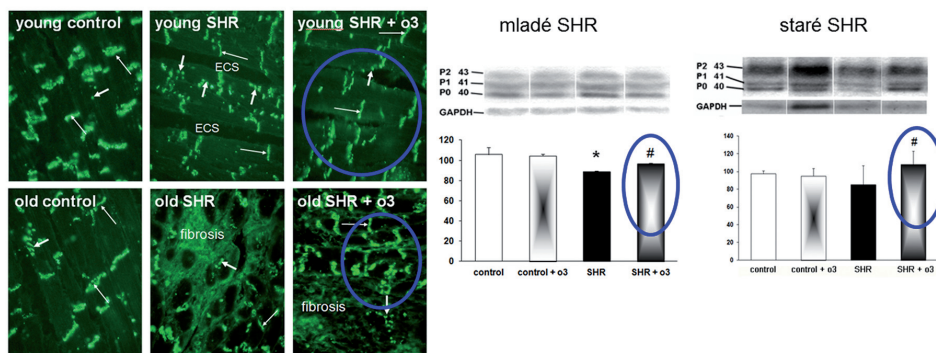
Kľúčové výsledky a záver

SHR v skorom aj pokročilom štádiu hypertenzie profitovali z konzumácie omega-3 PUFA najmä v dôsledku významného poklesu incidence komorovej fibrilácie a lepšej schopnosti srdca obnoviť sínusový rytmus

Antiarytmické účinky omega-3 PUFA sa dajú prinajmenšom čiastočne vysvetliť potlačením remodelácie gap-junctions, normalizáciou distribúcie Cx43, jeho proteínovej expresie a fosforylácie

Normalizácia distribúcie Cx43

Up-regulácia proteínovej expresie Cx43



Výsledky tejto štúdie podporujú profylaktické použitie omega-3 PUFA na zníženie incidence malígnych arytmií u hypertenzných jedincov

Zhrnutie II Summary II

Incidencia komorovej fibrilácie a čas návratu k sínusovému rytmu

Citlivosť na elektricky vyvolanú komorovú fibriláciu bola preukázateľne vyššia u SHR v porovnaní s normotenznými potkanmi. Pretrvávajúca komorová fibrilácia bola vyvolaná u 65 % mladých SHR a 100 % starých SHR, v porovnaní s 35 % incidenciou u mladých a 65 % u starých normotenzných potkanov. Suplementácia omega-3 PUFA znížila incidencia komorovej fibrilácie na asi 30 % u oboch vekových skupín SHR a na 16 % u normotenzných potkanov (**obrázok 4**). Navyše, omega-3 PUFA skracovali čas potrebný na návrat k sínusovému rytmu u oboch vekových skupín SHR.

Záver

V tejto experimentálnej štúdii sme poukázali, že samce SHR v skorom aj pokročilom štádiu hypertenzie a ňou vyvolaného poškodenia srdca profitovali z podávania omega-3 PUFA, konkrétne potlačením incidence komorovej fibrilácie a rýchlejším návratom do sínusového rytmu. Tieto antiarytmické účinky omega-3 PUFA možno prinajmenšom čiastočne vysvetliť potlačením remodelácie gap-junction, zmiernením abnormalít v distribúcii Cx43, jeho proteínovej expresii, ako aj fosforylácii (**zhrnutie I a II**). Omega-3 PUFA pozitívne zasiahli do PKC signalizácie – zvyšovali kardioprotektívnu PKC epsilon a potláčali proapoptotickú PKC delta. Navyše, aj krátkodobá (dvojmesačná) suplementácia obnovila fyziologický profil MyHC u mladých SHR, ako aj starých normotenzných potkanov. U starých SHR znížila systolický tlak krvi a hladiny celkového cholesterolu, ako aj triacylglycerolov. Výsledky tejto štúdie podporujú profylaktické použitie omega-3 PUFA na zníženie kardiovaskulárneho rizika a incidence malígnych arytmii u hypertenzných jedincov.

Literatúra

1. Simko F, Pechanova O. Remodelling of the heart and vessels in experimental hypertension: advances in protection. *J Hypertens*. 2010 Sep;28(Suppl 1):S1-6.
2. Hasenfuss G. Animal models of human cardiovascular disease, heart failure and hypertrophy. *Cardiovasc Res*. 1998 Jul;39(1):60-76.
3. Tribulova N, Okruhlicova L, Imanaga I, Hirosawa N, Ogawa K, Weismann P. Factors involved in the susceptibility of spontaneously hypertensive rats to low K⁺-induced arrhythmias. *Gen Physiol Biophys*. 2003 Sep;22(3):369-382.
4. Tribulova N, Okruhlicova L, Novakova S, Pancza D, Bernatova I, Pechanova O, Weismann P, Manoach M, Seki S, Mochizuki

5. S. Hypertension-related intermyocyte junction remodelling is associated with a higher incidence of low-K⁺-induced lethal arrhythmias in isolated rat heart. *Exp Physiol*. 2002 Mar;87(2):195-205.
5. Teunissen BEJ, Jongsma HJ, Bierhuizen MFA. Regulation of myocardial connexins during hypertrophic remodelling. *Eur Heart J* 2004;25:1979-1989.
6. Kostin S, Dammer S, Hein S. Connexin 43 expression and distribution in compensated and decompensated cardiac hypertrophy in patients with aortic stenosis. *Cardiovas Res* 2004;62:426-436.
7. Dhein S. Gap junctional channels in cardiovascular system: pharmacological and physiological modulation. *Trends Pharmacol Sci* 1998;19:229-241.
8. Bruzzone R, White TW, Paul DL. Connections with connexins: the molecular basis of direct intercellular signaling. *Eur J Biochem*. 1996 May 15;238(1):1-27.
9. Salameh A, Dhein S. Pharmacology of gap junctions. New pharmacological targets for treatment of arrhythmia, seizure and cancer? *Biochim Biophys Acta*. 2005 Dec 20;1719(1-2):36-58.
10. Naitoh K, Yano T, Miura T, Itoh T, Miki T, Tanno M, Sato T, Hotta H, Terashima Y, Shimamoto K. Roles of Cx43-associated protein kinases in suppression of gap junction-mediated chemical coupling by ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2009 Feb;296(2):H396-403.
11. Liu F, Gutstein DE. The cardiac gap junction: a potential therapeutic target in the treatment of heart disease. *Mt Sinai J Med*. 2002 Nov;69(6):421-424.
12. Beardslee MA, Lerner DL, Tadros PN, et al. Dephosphorylation and intracellular redistribution of ventricular connexin43 during electrical uncoupling induced by ischemia. *Circ Res* 2000 Oct 13; 87(8):656-62.
13. Steinberg SE. Distinctive activation mechanisms and functions for protein kinase Cdelta. *Biochem J*. 2004 Dec 15;384(Pt 3):449-459.
14. Manoach M, Tribulova N, Voglezang D, Thomas S, Podzuweit T. Transient ventricular fibrillation and myosin heavy chain isoform profile. *J Cell Mol Med* 2007;11:171-174.
15. De Caterina R. n-3 fatty acids in cardiovascular disease. *N Engl J Med*. 2011 Jun 23;364(25):2439-2450.
16. von Schacky C, Harris WS. Cardiovascular risk and the omega-3 index. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)*. 2007 Sep;8(Suppl 1):S46-49.
17. Rupp H, Rupp TP, Alter P, Maisch B. Mechanisms involved in the differential reduction of omega-3 and omega-6 highly unsaturated fatty acids by structural heart disease resulting in "HUFA deficiency". *Can J Physiol Pharmacol*. 2012 Jan;90(1):55-73. doi: 10.1139/y11-101.
18. Bacova B, Sec P, Radosinska J, Certik M, Vachulova A, Tribulova N. Lower omega-3 index is a marker of increased propensity of hypertensive rat heart to malignant arrhythmias. *Physiol. Res*. 2013;62(Suppl.1):S201-S208.

Práca bola podporená VEGA 0046/12 a SKS grantom.