

Ph.D. értekezés tézisei

**Poli(ADP-ribóz) polimeráz gátló szerek által kiváltott Akt aktiváció  
postischaemiás szívben**

**Dr. Kovács Krisztina**

**Program- és témavezető: Prof. Dr. Sümege Balázs**

**Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar  
Biokémiai és Orvosi Kémiai Intézet  
Pécs**

**2005.**

## Bevezetés

Ischaemia-reperfúzió alatt jelentős mennyiségben képződnek reaktív oxigén gyökök (ROS), mint pl. a  $H_2O_2$ , szuperoxid és hidroxil gyökök. A reaktív oxigén szabadgyökök különböző sejtkárosító folyamatokat indítanak be, úgy mint a lipid peroxidáció, a fehérje oxidáció és a DNS törés. Az egyes láncú DNS törések aktiválják a nukleáris poli(ADP-ribóz) polimeráz (PARP) enzimet. Az aktivált PARP az intracelluláris  $NAD^+$ -ot nikotinamidra és ADP-ribózra hasítja, mely utóbbit polimerek formájában különböző nukleáris fehérjékhez köti és egyben automodifikálja önmagát. A PARP aktivitás így celluláris  $NAD^+$  depléciót okoz. Mivel a NADH a mitokondriális légzési lánc elektron szállítója, a  $NAD^+$  hiány rövid időn belül ATP depléciót okoz. A túlzott mértékű PARP aktivitás tehát ATP hiányt okoz, amely végül a sejt elhalásához vezethet. A PARP gátlása megóvhatja a különböző sejteket az oxidatív károsodásuktól.

A szívizom energiatermelése döntő mértékben a mitokondriumokban zajlik, így a mitokondrium védelme fontos szerepet játszhat a szívizom energiatermelésének fenntartásában. Korábbi adataink szerint a PARP inhibitorok csökkenteni tudták a sejtek oxidatív károsodásait, minden gyökfogó (scavenger) aktivitás nélkül. A szívizom ischaemia-reperfúzió során a szívizomsejtek döntő mértékben nekrozissal pusztulnak el, mára bizonyítást nyert, hogy apoptózis is előfordul. Az apoptózis új terápiás célpont lehet a szívizom infarktus elleni védelemben, hisz ezek a sejtek, szemben a nekrotikusan elpusztultakkal, még potenciálisan megmenthetők a sejthaláltól.

Az oxidatív stressz a receptor tirozin-kináz–foszfatidilinozitol-3-kináz–Akt jelátviteli utat is aktiválja, amely protektív hatással rendelkezik az apoptózis gátlásán (inaktiválja a Bad fehérjét, kaszpáz-9-t és a Forkhead transzkripciósi faktort) valamint metabolikus adaptáción (a glikogén-szintáz-kináz-3 $\beta$  /GSK-3 $\beta$ / gátlásával serkenti a glikogén és fehérje szintézist) és vazodilatáción (aktiválja az endothelialis nitrogén-monoxid-szintáz /eNOS/) keresztül.

Korábbi munkáink és irodalmi adatok szerint a PARP-inhibitorok védőhatást mutatnak a szívizom ischaemia-reperfúziós károsodásával szemben.

## Célkitűzések

Izolált szívperfúziós modellen vizsgáltuk egy ismert PARP gátló vegyület; a 4-hidroxi-kinazolin és egy kísérleti stádiumban lévő scavenger és PARP gátló tulajdonsággal is rendelkező vegyület; a HO-3089 hatását a szívizom energiaháztartására, a szívteljesítményre és az elhalt szívizom területek nagyságára ischaemia-reperfúzió körülményei között. Mértük a két vegyület oxidatív károsodásokra (lipid peroxidációra, fehérje oxidációra és össz peroxid mennyiségekre) kifejtett hatását. Ezt követően a perfundált szívizomszövetekben Western blot analízis segítségével vizsgáltuk a protektív útvonalak aktiválódását (különös tekintettel az Akt és GSK-3 $\beta$  foszforilációjára). A foszfatidilinozitol-3-kináz specifikus gátlószerével (wortmannin és LY294002) végzett kísérletek pedig mélyebb betekintést engedtek a vizsgált szerek esetleges hatásmechanizmusába.

## **Anyagok és módszerek**

### **Anyagok**

A 4-hidroxi-kinazolint, a 2,4-dinitrofenilhidrazint, az LY294002-t és a tiobarbitursavat a Sigma Aldrich Chemical Co.-tól vásároltuk. A wortmannint a Calbiochemtől vásároltuk. A HO-3089 a Szerves- és Gyógyszerkémiai Intézetben került szintézisre. Minden egyéb reagenst a kereskedelmileg elérhető legnagyobb tisztaságban alkalmaztunk.

### **Állatok**

A Langendorff szívperfúzió során 300-350 grammos felnőtt, hím patkányok szívét használtuk. Minden állatkísérletet az állatok tartásával és használatával foglalkozó etikai alapelveknek megfelelően végeztünk.

### **Langendorff szívperfúzió**

A kísérleti patkányokat 200 mg/ttkg ketamin intraperitoneális beadásával altattuk el, és 100 IU i.p. Na-heparinnal heparinizáltuk. A szíveket a Langendorff módszer szerint az aortán keresztül retrográd perfundáltuk 70 Hgmm-es állandó nyomással 37°C-on. A perfúziós folyadék módosított, foszfátmentes Krebs-Henseleit puffer volt, amely 118 mM NaCl-t, 5 mM KCl-t, 1,25 mM CaCl<sub>2</sub>-t, 1,2 mM MgSO<sub>4</sub>-t, 25 mM NaHCO<sub>3</sub>-t, 11 mM glükózt és 0,6 mM oktánsavat tartalmazott, és pH-ját 7,4-re állítottuk. A 15 perces kimosási fázist követően a szíveket 10 percig normoxiás körülmények között perfundáltuk, majd az aorta beáramlási csövének az elzárásával 30 perces globális ischaemiát hoztunk létre, amit 15, 45 illetve 90 perces reperfúziós fázis követett. Az alkalmazott vegyületeket a kimosási fázist követően adtuk a perfúziós médiumhoz: 25 μM HO-3089, 100 μM 4-hidroxi-kinazolin, valamint 100 nM wortmannin ill. 10 μM LY294002. A perfúziók végén a szíveket lefagyasztottuk.

### **NMR spektroszkópia**

A <sup>31</sup>P spektrumokat Varian UNITY<sup>INOVA</sup> 400 WB készülékkel detektáltuk. A perfundált szívek <sup>31</sup>P méréseit (161,9 MHz) 37°C-on Z•SPEC 20 mm-es „broadband” mintavételi fejjel végeztük (Nalorac Co., Martinez, California, USA) a felvétel alatt GARP-1 proton lecsatolást alkalmazva. A mező homogenitását a proton jel ( $w^{1/2} = 10\text{--}15$  Hz) követésével állítottuk be. A spektrumokat 3 percenként gyűjtöttük, minden FID (free induction decay) jelben 120 tranziens összegyűjtésével.

## **Szívfunkció**

A mitrális billentyűn keresztül egy gumiballont helyeztünk a bal kamrába, és annyira töltöttük levegővel, hogy a végdiasztolés nyomás 8-12 Hgmm legyen. Minden mérést ugyanazon ballon térfogattal végeztük. A 15 perces kimosási fázist követően a szíveket 10 percig normoxiás körülmények között perfundáltuk, majd az aorta beáramlási csövének az elzárásával 30 perces globális ischaemiát hoztunk létre, amit 15, 45 illetve 90 perces reperfüziós fázis követett. Az alkalmazott vegyületeket a kimosási fázist követően adtuk a perfúziós médiumhoz: 25  $\mu$ M HO-3089, 100  $\mu$ M 4-hidroxi-kinazolin. A szívfunkciót jellemző adatokat (LVDP, RPP, dP/dt) a perfúziók teljes időtartama alatt detektáltuk.

## **Elhalt szívizom terület nagyságának mérése**

A perfúziót követően a szív pitvarait és az aortagyököt levágtuk, majd a szívet felkötve egész éjszakán át  $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tároltuk. A kamrákat még fagyott állapotban egyforma 2-3 mm vastagságú darabokra vágtuk, melyeket 30 percig 1 %-os trifenil- tetrazolium klorid oldatban (0,2 M Trisz pH=7,40 pufferben oldva)  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on festettük. A normál szívizomszövet téglavörösre festődött, míg az elhalt terület színe nem változott (nem festődött). Az elhalt terület nagyságát felület és súly alapján számoltuk.

## **Lipid peroxidáció és fehérje oxidáció**

A lipid peroxidáció mértékét a tiobarbitursav reaktív anyagok képződése alapján határoztuk meg egy malondialdehid standard segítségével. A protein karbonil-tartalmat a 2,4-dinitrofenilhidrazin módszerrel mértük.

## **Totál peroxid mennyiség meghatározás**

A szívizomszövetek 100 mg-os darabjait jégen MOPS (50 mM) és EDTA (1 mM) pufferben homogenizáltuk. Az oldatot argon gázzal átbuborékolattuk, majd szonikálást követően Tween 20-t adtunk a mintákhoz, melynek a végkoncentrációja 1 % volt. Centrifugálást követően a felülúszókból Biomedica OxyStat kisset használva (Biomedica GmbH, Bécs, Ausztria) totál peroxid tartalmat határoztunk meg.

## **Gélelektroforézis és Western Blot analízis**

A szívizomszövetek 50 mg-os darabjait jégen 50 mM-os Tris pufferben (pH=8,0) homogenizáltuk, majd 2x mintapuffert adtunk hozzá. Az így elkészített mintákat 12%-os SDS-poliakrilamid gélen

megfuttattuk, majd a fehérjéket nitrocellulóz membránra blottoltuk. Szárítás, majd 2 órás, 3%-os nem-zsíros tejben való blokkolás után a membránokat egy éjszakán keresztül inkubáltuk az első antitesteket tartalmazó oldatokban – nem foszforilált Akt, foszfo-Akt (1:4000 hígítás; Calbiochem, Darmstadt, Németország) és foszfo-GSK-3 $\beta$  (1:1000 hígítás, Cell Signaling Technology, Beverly, USA). Mosás (Tris és 0,2% Tween tartalmazó oldattal) után a nitrocellulóz membránokat két órán keresztül, szobahőmérsékleten anti-nyúl HRP-konjugált (1:3000 hígítás; BioRad, Budapest, Magyarország) második antitestet tartalmazó oldatban inkubáltuk. Újabb mosás után az antigén-antitest komplexek jelenlétét ECL (enhanced chemiluminescence) módszer segítségével tettük láthatóvá. Az eredményeket Scion Image 4.02 programmal számszerűsítettük.

### **Statisztikai analízis**

Variancia analízist végeztünk, és az összes adatot az átlag  $\pm$  S.E.M.-ként (a középérték közép hibája) adtuk meg. A párosítatlan Student-féle t teszttel ítéltük meg a szignifikáns különbségeket, és a 0,05 alatti p értékeket tekintettük szignifikánsnak.

## Eredmények

*A PARP gátló szerek hatása a szívizom energia metabolismusára, kontraktilis funkciójára és a sejthalálra ischaemia-reperfúzió körülményei között*

NMR spektroszkópiás módszerrel Langendorff szívperfúzió alatt figyeltük a szívizomszövetek nagy-energiájú foszfát intermedierjeinek változását a perfúzió teljes időtartama alatt. Az ischaemiás időszak alatt gyors kreatin-foszfát és ATP csökkenést, valamint anorganikus foszfát szint emelkedést tapasztaltunk. Kísérleti körülményeink között a nem kezelt esetekben a 45 perces reperfúziós fázis alatt a nagy-energiájú foszfát intermedierek csak részleges visszatérését tapasztaltuk, szemben az alkalmazott PARP-inhibitorokkal, melyek elősegítették a kreatin-foszfát (CrP) és ATP visszatérését. Mindkét vizsgált vegyület szignifikáns mértékben javította a kreatin-foszfát szintek visszatérését ( 61.2±5.7% a 4OHQ-al kezelt és 49.1±5.4% a HO-3089-al kezelt esetekben szemben 24.2±5.1% a nem kezelt esetekhez képest). A PARP inhibitorok elősegítették az ischaemia során felhalmozódott anorganikus foszfát gyorsabb és teljesebb felhasználódását a reperfúzió alatt (a vég-ischaemiás érték %-ában kifejezve: 27.8±3.2% a 4OHQ-kezelt és 31.5±4.1% a HO-3089-kezelt esetekben, szemben a 53.7±2.9% a nem kezelt szívekben).

A PARP gátló szerek hatását a szívizom funkciójának a visszatérésére a már korábban is (100 µM 4OHQ és 25 µM HO-3089) alkalmazott koncentrációkkal detektáltuk. A normoxiás fázis végén a LVDP értéke 135.2±16.4 mmHg, a RPP értéke  $3.4±0.15×10^4$  mmHg/min, a  $dp/dt_{max}$  értéke 1310±196 mmHg/s volt, míg az átlagos szívfrekvencia 217±19 ütés/min volt. Mindkét vizsgált vegyület szignifikáns mértékben javította az összes jellemző értéket, jelezve hogy az energiaháztartás megőrzése jobb szívfunkciót eredményez.

A 90 perces reperfundált szívizom minták trifenil-tetrazolimklorid festése alapján elmondható, hogy az alkalmazott PARP gátló vegyületek szignifikáns mértékben csökkentették az elhalt szívizom területek nagyságát a nem kezelt mintákhoz képest (a teljes területnagyság %-ában kifejezve: 33.1±4.2% a 4OHQ-al kezelt és 37.2±5.7% a HO-3089-al kezelt esetekben, szemben a 64.2±6.8% a nem kezelt esetekben).

*A PARP gátló szerek hatása az oxidatív károsodásokra, valamint az ischaemia-reperfúzió által kiváltott Akt foszforilációra*

Az ischaemia-reperfúzió által kiváltott lipid-peroxidáció mértékét a Langendorff-perfundált szívizomszövetekből a tiobarbitursav-reaktív termékek mérésével határoztuk meg (TBARS).

Kísérleti körülményeink között az ischaemia-reperfúzió jelentős mértékben növelte a TBARS mennyiségét a normoxiás körülményekhez viszonyítva. Normoxiás körülmények között a PARP inhibitoroknak nincsen szignifikáns szerepük a TBARS mennyiségének változtatásában. Ischaemia-reperfúzió körülményei között azonban a PARP inhibitorok szignifikáns mértékben csökkentették a TBARS mennyiségét, szemben az ischaemia-reperfúzió által indukálttal, jelezve, hogy a PARP inhibitorok megóvják a szívmotort az ischaemia-reperfúzió által kiváltott lipid-peroxidációtól.

Az ischaemia-reperfúziós ciklus által kiváltott reaktív oxigén gyökök növelik a fehérjék oxidációjának a mértékét, amit a protein-karbonil tartalom mérésével határoztunk meg. Az ischaemia-reperfúzió szignifikáns mértékben növelte a fehérje oxidáció mértékét, melyet a PARP gátlók alkalmazásával mérsékelni tudtunk.

Kísérleti körülményeink között a az ischaemia-reperfúzió önmagában mérsékelt Akt aktivációt okoztak, melyet az alkalmazott PARP gátló szerek tovább erősítettek.

#### *A PI3-kináz gátlószerei befolyásolják a PARP gátlók szívmotort védő hatását*

Kíváncsiak voltunk, hogy a megfigyelt fokozott Akt aktiváció hozzájárul-e a PARP gátlók szívmotortvédő hatásához, a szívmotort PI3-kináz gátló szerekkel kezeltük. A wortmannint 100 nM-os koncentrációban önmagában adva, vagy a LY294002-t 10  $\mu$ M-os koncentrációban önmagában adva nem változtatta a nagy-energiájú foszfát intermedierék visszatérését és nem segítette az anorganikus foszfát szint csökkenését. Minkét vegyület azonban csökkentette a kardioprotektív vegyületek kedvező hatását, mind a kreatin-foszfát, mind az ATP, mind az anorganikus foszfát szintjére. Ezen túlmenően az alkalmazott PI3-kináz gátló vegyületek a PARP-gátlók által kiváltott megnövekedett szívteljesítményt is szignifikáns mértékben csökkentették.

A wortmannint és LY294002-t önmagában alkalmazva nem befolyásolták az ischaemia-reperfúzió okozta elhalt szívmotort terület nagyságát (az értékek  $59.6 \pm 6.5\%$  és  $60.1 \pm 5.8\%$  voltak). A PARP gátló és PI3-kináz gátló szerek együttes alkalmazása azonban megnövelte az elhalt szívmotort területek nagyságát, a csak a PARP gátló szerekkel kezelt esetekhez képest ( $36.1 \pm 2.2\%$ -ról a 4OHQ-al kezelt,  $41.6 \pm 2.9\%$ -ra a 4OHQ + wortmannin-al kezelt  $42.5 \pm 3.4\%$ -ra a 4OHQ + LY294002-al kezelt és esetekben; illetve  $33.4 \pm 3.1\%$ -ról a HO-3089-al kezelt,  $45.3 \pm 2.7\%$ -ra a HO3089 + wortmannin-al kezelt és  $47.2 \pm 2.6\%$ -ra a HO-3089 + LY294002-al kezelt esetekben).

A PI3-kináz gátló szerek önmagukban is csökkenteni tudták az IR által okozott lipid peroxidáció mértékét ( $82.4 \pm 5.7$  nM/g a wortmannin-al kezelt és  $81.4 \pm 3.9$  nM/g a LY294002-al kezelt esetekben, szemben a  $125.2 \pm 5.4$  nM/g a nem kezelt esetekhez képest). A PARP gátló és PI3-kináz gátló



szereket együtt alkalmazva, a magasabb TBARS szinteket eredményeztek, mint a PARP gátlók önmagukban (51.3±2.3% a 4OHQ + wortmannin kezelt és 62.8±3.4% a 4OHQ + LY294002 kezelt, szemben a 46.3±3.2% a csak 4OHQ-kezelt esetekben; illetve 52.5±3.1% a HO3089 + wortmannin kezelt és 58.7±4.3% a HO-3089 + LY294002 kezelt, szemben a 49.5±4.1% a csak HO3089-al kezelt esetekben). Hasonlóan a lipid peroxidációs értékekhez a fehérje oxidáció és a totál peroxid koncentráció értékét is csökkentette mind a wortmannin, mind az LY294002, bár nem olyan mértékben, mint az alkalmazott PARP gátlók. A PI3-kináz gátló szerek részlegesen tudták csökkenteni a PARP gátlók védő hatását.

A wortmannin-t és LY294002-t önmagában alkalmazva nem befolyásolták döntő mértékben az IR okozta Akt aktivációt. Ugyanakkor a PARP gátlókat és PI3-kináz gátlókat együttesen alkalmazva az Akt-1 foszforilációjának az emelkedését találtuk, ami azonban szignifikánsan kisebb mértékű volt, mint a csak PARP gátló szerrel kezelt esetekben. Az ischaemia-reperfúzió által okozott gyenge GSK-3β foszforilációt a wortmannin és a LY294002 sem tudta gátolni. Hasonlóan az Akt foszforilációhoz a PARP gátlók és PI3-kináz gátlók együttes alkalmazása szignifikáns mértékben gyengíteni tudta a GSK-3β foszforilációját a PARP gátlók önálló alkalmazása során talált értékkel szemben.

## Megbeszélés

A poli(ADP-ribóz) polimeráz gátló szerek védelmet nyújtanak myocardialis ischaemia-reperfúzió során, a védelem molekuláris magyarázata azonban még felderítetlen terület. A túlzott mértékű PARP aktiváció a sejt  $\text{NAD}^+$  és ATP szintjeinek csökkenéséhez és a szívizomsejtek nekrozisához vezet. A szívizomsejtek jelentős része IR alatt apoptózis útján hal el, de a PARP szerepe ebben a folyamatban még nem teljesen tisztázott. Irodalmi adatok és saját eredményeink kimutatták, hogy a PARP gátló vegyületek megvédik a postischaemiás szívizom szövetet és csökkentik a szabadgyök termelés mértékét, mely döntően a mitokondriumokban zajlik. Jelen munkánk a mitokondriális poli(ADP-ribóz) polimerázokról szól, melyeket PARP-1 gátló szerekkel blokkolni tudtunk. Ennek szerepe lehet a mitokondriumok védelmében, de valószínű sokkal összetettebb kérdéstről van szó.

Korábbi eredményeink kimutatták, hogy a PARP gátló szerek fokozzák az Akt foszforilációját és aktivációját májban, tüdőben és lépben lipopoliszacharid kezelt egerekben, és, hogy a PARP gátlók védelme csak részben történik a PI3-kináz/Akt útvonalon keresztül. Hasonló eredményeket találtak idegsejteknél is. Ezek a megfigyelések azt mutatják, hogy a PARP gátlók védő hatása sokkal összetettebb, mint azt az  $\text{NAD}^+$  és ATP hiánytól várnánk, hisz az Akt számos szabályozó fehérjét képes foszforilálni- többek között a GSK-3 $\beta$ -t, kaszpáz-9-t, BAD fehérjét és a FKHR-transzkripciós faktort. A pro-apoptotikus BAD fehérje foszforilációja és inaktivációja hozzájárul a mitokondrium membrán stabilizációjához, és megóvjva a pro-apoptotikus fehérjék kiáramlását, mint pl. a citokróm c, vagy az apoptózist indukáló faktor. A PARP gátló védelme tehát a PI3-kináz/Akt/BAD fehérje útvonalon keresztül zajlik.

Munkánkban egy ismert és egy újonnan kifejlesztett PARP gátló vegyület hatását vizsgáltuk perfundált szívizomban. Az alkalmazott PARP gátlók elősegítették a kreatin-foszfát, ATP és pH szintek visszatérését és az anorganikus foszfát szintek csökkenését ischaemia-reperfundált szívizomban. A PARP gátlók csökkentették az oxidatív károsodásokat- a lipid peroxidáció, fehérje oxidáció és a totál peroxid koncentrációk mértékét. A szívizom energetikájára is kedvezően hatottak, elősegítették a szívfunkció visszatérését, és csökkentették az elhalt szívizomterületek nagyságát.

Kísérleti körülményeink között a PARP gátlók fokozták az Akt foszforilációját. Kimutattuk, hogy ez a foszforiláció egyben aktivációt is jelent, hisz az Akt egyik szubsztrátja, a GSK-3 $\beta$  is foszforilálódik egyidejűleg. Bár ezen adatok azt mutatták, hogy az Akt aktivációja a PARP gátlás

következménye, még nem teljesen bizonyos, hogy a PARP gátlók védelme az Akt aktivációjával magyarázható.

A PI3-kináz gátlók szignifikáns, bár nem teljes mértékben tudták csökkenteni az Akt és GSK-3 $\beta$  foszforilációját PARP gátlókkal együtt alkalmazva, jelezve, hogy az Akt foszforilációja döntő mértékben a PI3-kináz útvonalon keresztül zajlik. A PI3-kináz/ Akt útvonal gátlása PARP inhibitorokkal együtt adva szignifikáns mértékben csökkentette a kreatin-foszfát, ATP és pH szintek visszatérését és az anorganikus foszfát szintek csökkenését, jelezve, hogy az Akt aktivációjának fontos szerepe lehet a szívizom energiaháztartásának a helyreállításában reperfüzió során. Ez a megfigyelés magyarázható azal, hogy az Akt segíti a mitokondrium membrán integritásának a megóvását. A PI3-kináz gátlók csökkentették a PARP gátló védő hatását az elhalt szívizom terület nagyságára és a szívizom energiáinak a visszatérésére. A wortamannin és az LY294002 önmagában alkalmazva nem befolyásolta döntő mértékben a szívizom energitájának a visszatérését, bár általunk nem ismert mechanizmussal csökkentették a szívizom oxidatív károsodásait. Továbbá a PI3-kináz gátlók nem tudták befolyásolni az Akt foszforilációját, még 5-szörös koncentrációban alkalmazva sem sikerült teljesen blokkolni az Akt foszforilációját IR során. Azt feltételezzük, hogy az Akt egy kis mértékben tehát PI3-kináz independens útvonalon keresztül is aktiválódik. A PARP gátlók által okozott Akt aktiváció, azonban döntő mértékben a PI3-kinázon keresztül történik, hisz ez teljesen gátolható PI3-kináz gátló szerekkel.

## Következtetések

Munkánk során először igazoltuk, hogy a PARP inhibitorok befolyásolják az intracelluláris jelátviteli útvonalakat. Mindkét vizsgált PARP gátló vegyület megvédte a szívizom energia metabolismusát és kontraktilis funkcióját ischaemia-reperfúzió körülményei között, és csökkentették az oxidatív szívizom-károsodásokat. A PARP inhibitorok az Akt fokozott aktivációját idézték elő, ami a GSK 3 inaktivációjához vezetett. A foszfoinozitol-3-kináz enzimet gátló wortmannin és LY294002 részben csökkentette a PARP inhibitorok védő hatását- mind a szívizom energetikát, kontraktilis funkciót, elhalt terület nagyságot, oxidatív károsodásokat, és az Akt aktivációt is. Eredményeink azt mutatták, hogy a vizsgált vegyületek kardioprotektív tulajdonságához a protektív Akt jelátviteli útvonal aktivációja is hozzájárulhat.

Bár még keveset tudunk az ischaemia-reperfúzió által indukált jelátviteli folyamatokról. Az oxidatív stressz által kiváltott szabadgyököknek fontos szerepük lehet.

Eredményeink azt mutatják, hogy az Akt aktivációját a PARP gátló kezelés okozza, és hogy ennek fontos szerepe lehet a sejtek túlélésére. A PARP gátlók protektív jelátviteli utakra gyakorolt hatásainak megismerése új perspektívát nyithat a humán betegségek pathomechanizmusának megértésében, és a jövőbeni gyógyszeres beavatkozás lehetőségét vetíti elénk.