

SESJA VIII

SOBOTA 22.10, 10.40–11.35

WOLNE RODNIKI, NIEDOKRWIENIE, PROTEKCJA, REPERFUZJA

44

Czy procesy zapalne mają wpływ na zjawisko oporności na klopidoogrel?

Renata Głowczyńska, Mateusz Śpiewak, Łukasz A. Małek, Krzysztof J. Filipiak, Maria Zawadzka-Byško, Marcin Grabowski, Monika Szpotańska, Marek Rosiak, Grzegorz Opolski

I Katedra i Klinika Kardiologii, Akademia Medyczna, Warszawa

Wstęp: Badania eksperymentalne wykazują proces aterosklerozy, a także wystąpienie ostrego zespołu wieńcowego (OZW), są wynikiem aktywacji procesu zapalnego. Z uwagi na zalecane leczenie przeciwplatekcyjne w OZW nieznana jest zależność odpowiedzi na to leczenie od czynników stanu zapalnego. Jednakże istotnym problemem jest zjawisko oporności na klopidoogrel.

Cel: Określenie wpływu czynników procesu zapalnego na występowanie oporności na klopidoogrel.

Metodyka: Do badania włączono 48 pacjentów (średnia wieku $60,3 \pm 10,6$ lat; 31 mężczyzn) przyjętych do szpitala z powodu OZW. U wszystkich pacjentów wykonano badanie koronarograficzne i włączono klopidoogrel. Pomiedzy 5. a 9. dobą leczenia oceniano funkcję płytek po stymulacji adenylozyna-difosforanem (ADP) przy pomocy urządzenia PFA-100. Kryteria wyłączenia stanowiły stosowanie antagonistów receptorów GP IIb/IIIa, choroby nowotworowe i hematologiczne.

Wyniki: Wywiad uprzednich zdarzeń sercowo-naczyniowych stwierdzono u 22 (45,8%) pacjentów. Zabieg pierwotnej angioplastyki wieńcowej wykonano u 43 (89,6%) pacjentów. U 13 (27,1%) pacjentów zaobserwowano oporność biochemiczną na lek, definiowaną jako czas do powstania czopu pierwotnego (ang. *Collagen/ADP cartridge closure time*, CT) – $CADP-CT < 133$ s. Nie wykazano istotnych różnic w charakterystyce demograficznej i klinicznej pacjentów z prawidłową i upośledzoną odpowiedzią na lek.

Wśród pacjentów palących papierosy zaobserwowano istotne różnice poziomu białka C-reaktywnego ($79,95$ vs $9,85$ mg/L; $p=0,0015$) i fibrynogenu ($668,8$ vs $397,7$ mg/dL; $p=0,0008$) odpowiednio w grupie z opornością na lek i jej brakiem. Podobne zależności wykazano w grupie pacjentów < 65 r.ż. Młodszy pacjenci, wykazujący niepełną odpowiedź na leczenie przeciwplatekcyjne, mieli wyższe poziomy CRP ($64,9$ vs $7,58$ mg/L; $p=0,001$) i fibrynogenu ($669,4$ vs $408,6$ mg/dL; $p=0,0002$) niż pacjenci w tej samej grupie wiekowej z prawi-

idłową odpowiedzią. Nie zaobserwowano istotnych różnic w zakresie leukocytozy.

Wnioski: Zjawisko oporności na klopidoogrel stanowi częsty problem w praktyce klinicznej. U młodszych pacjentów i palaczy tytoniu zaburzona funkcja płytek krwi wydaje się mieć związek z aktywacją procesów zapalnych. Zależność ta wymaga jednak dalszych badań.

45

Mechanizm produkcji anionorodnika ponadtlenkowego ($*O_2^-$) w niedokrwionym i reperfundowanym sercu. Rola osi oksydazy NADPH-oksydoreduktaza ksantynowa

Anna Konior, Emilia Klemenska, Andrzej Beręsewicz

Zakład Fizjologii Klinicznej, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa

W reperfundowanym sercu wzrasta produkcja uszkadzającego $*O_2^-$. Wykazaliśmy poprzednio w sercu świnki morskiej, że produkcji tej i objawom reperfuzyjnego uszkodzenia serca całkowicie zapobiegają: inhibitor oksydazy NADPH (NOX, apocynina) i inhibitor oksydazy ksantynowej (XO, allopurinol). Obecnie testujemy hipotezę, że to XO jest bezpośrednim źródłem toksycznego $*O_2^-$ w reperfuzji, a rola NOX polega na regulowaniu aktywności XO, poprzez przekształcanie dehydrogenazy ksantynowej (XD) w XO.

Izolowane serca świnek morskich były perfundowane metodą Langendorfa i poddawane kontrolnej perfuzji tlenowej lub 30-min niedokrwieniu i 10-min reperfuzji (IR). Podobne eksperymenty wykonano na sercach pochodzących od zwierząt karmionych przez 2 tyg. dietą wzbogaconą w wolfram (inhibitor XOR, 700mg/kg karmy). Uwalnianie $*O_2^-$ przez serce mierzono metodą z cytochromem c. Natomiast w homogenatach serc badano aktywność NOX (via pomiar $*O_2^-$ – metodą z cytochromem c) oraz aktywność XO i oksydoreduktazy ksantynowej ($XOR=XO+XD$, via pomiar kwasu moczowego).

IR towarzyszył wielokrotny wzrost produkcji $*O_2^-$ i 40% wzrost aktywności NOX w porównaniu z sercami kontrolnymi. Choć ogólna aktywność XOR pozostawała niezmienną, wzrost udziału XO w całkowitej aktywności XOR ($79,9$ vs. $58,5\%$ w kontroli). Apocynina (1 mM) powodowała $>95\%$ spadek aktywności NOX, nie wpływała na ogólną aktywność XOR, zmniejszała udział XO w ogólnej aktywności XOR do 63% (vs $79,9\%$ w IR) i zapobiegała reperfuzyjnemu wzrostowi produkcji $*O_2^-$. Allopurinol i wolfram nie wpływały na aktywność NOX, obniżały ogólną aktywność XOR i zapobiegały reperfuzyjnej produkcji $*O_2^-$.

Wyniki są zgodne z hipotezą, że za reperfuzyjną produkcję O_2^- w sercu odpowiada kaskada NOX-XO i że to NOX jest regulatorem aktywności XO, a nie *vice versa*.

46

Niekorzystny wpływ histydyny na zmienność rytmu serca (HRV) u szczura

Łukasz Gawwiński, Juliusz Chorążewicz, Tomasz Wierzbza

Katedra i Zakład Fizjologii, Akademia Medyczna, Gdańsk

Histydyna jest zasadowym aminokwasem o wybitnej zdolności wymiatania reaktywnych postaci tlenu, zwłaszcza tlenu singletowego, rodnika hydroksylowego i kwasu podchlorkowego. Antyoksydacyjne i buforujące właściwości histydyny spowodowały, że jest ona wykorzystywana w kardioplegii jako składnik płynów kardioplegicznych (HTK, Celsior). Histydyna może także ujawniać właściwości prooksydacyjne w środowisku zawierającym nadtlenek wodoru i jony metali przejściowych. Opisano protekcyjne działanie histydyny i dipeptydów zawierających histydynę w eksperymentalnych modelach podarowych uszkodzeń mózgu oraz w ischemii i reperfuzji: serca, naczyń tętniczych, nerek, wątroby i trzustki.

Celem badań była ocena wpływu histydyny na wykładniki zmienności rytmu serca (HRV) odpowiadające autonomicznej regulacji rytmu serca.

Doświadczenia przeprowadzono na 12 szczurach, samcach szczepu Wistar (300-400 g), zainstrumentowanych chirurgicznie i długotrwale adaptowanych do warunków eksperymentalnych. Przed i w trakcie dożylnego podawania His (postępujące po sobie 30- min infuzje; dawki: 30, 100, 250, 750 mg/kg; N=7) oraz podczas referencyjnych infuzji 5% glukozy (N=5), rejestrowano EKG z elektrod przedsercowych. Analizę częstotliwościową HRV wyznaczono przy użyciu szybkiej transformaty Fouriera (FFT) z oknem spektralnym Hamminga, na podstawie analizy kolejnych 1024 odstępów RR, z wybranych losowo 3 do 7 fragmentów zapisu EKG, uzyskanego w ostatnich 20 min każdej z infuzji (częstość próbkowania 12 kHz, zestaw pomiarowy UNI-BIO, Kared, Polska). Obliczono całkowitą moc widma oraz wykładniki analizy czasowej i częstotliwościowej HRV.

Wyniki badań wskazują na to, że histydyna zwiększa, w sposób zależny od dawki, aktywność zarówno komponenty współczulnej, jak i przywspółczulnej autonomicznej regulacji rytmu serca. W zakresie dawek od 30 do 250 mg/kg i w mniejszym stopniu w dawce 750 mg/kg, histydyna zwiększa względny udział składowej współczulnej tej regulacji (istotny wzrost stosunku LF/HF), co jest uznanym wykładnikiem ryzyka wystąpienia zaburzeń rytmu serca. Reasumując, nie wydaje się, aby suplementacja histydyną mogła być bezpiecznie stosowana *in vivo*.

47

Mechanizmy indukowanej niedotlenieniem i reoksygenacją śmierci śródbłonna

Jarosław Zalewski¹, Ewa Stępień², Tomasz Milewicz³, Jerzy Sadowski⁴, Krzysztof Żmudka⁴

¹ Zakład Hemodynamiki i Angiokardiografii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński, Kraków

² Pracownia Biologii Molekularnej, Szpital Specjalistyczny im. Jana Pawła II, Kraków

³ Klinika Endokrynologii i Płodności, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński, Kraków

⁴ Klinika Chirurgii Serca i Naczyń, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński, Kraków

Cel: Wyjaśnienie mechanizmów indukowanej niedotlenieniem i reoksygenacją apoptozy i nekrozy komórek śródbłonna.

Metody: Komórki śródbłonna pochodzące z żyły pępowinowej poddano niedotlenieniu przez 2 godz. (2 N) lub 6 godz. (6 N), a następnie reoksygenacji o czasie trwania 2, 8 i 24 godz. Wskaźnik uwolnionej z komórek dehydrogenazy mleczanowej (LDHi) oznaczono metodą kolorymetryczną. Odsetek komórek nekrotycznych oraz ekspresję apoptozy na poziomie błony komórkowej monitorowano techniką podwójnego barwienia aneksyną V i jodkiem propidyny (AV/PI). Odsetek komórek posiadających jądra z obecnością lepkich 3'-końców DNA oznaczono metodą TUNEL. Ekspresję genów Bax i Bcl-2 oceniono metodą RT-PCR, policzono iloraz wartości ekspresji genów Bcl-2 i Bax (B/B).