

## A SZÍVIZOM ENDOGÉN ADAPTÁCIÓJA, SZIGNÁL MECHANIZMUSOK, TERÁPIÁS MEGFONTOLÁSOK: KÍSÉRLETES ÉS KLINIKAI VIZSGÁLATOK

A szívizom iszkémiás prekondicionálásával kiváltható endogén védelem a ma ismert egyik leghatékonyabb védelmi mechanizmus az iszkémiás-reperfúziós károsodásokkal szemben. Az elmúlt évtizedben az iszkémiás prekondicionálás a kísérletes kardiológia egyik legintenzívebben kutatott területévé vált, melynek kiemelten vizsgált területe az adaptációs válasz sejten belüli jelátviteli mechanizmusainak minél mélyebb megismerése. Az endogén adaptáció szignálfolyamatainak pontosabb megértése lehetővé teszi ezen jelátviteli utak módosítását, befolyásolását, így az adaptációs válasz farmakológiai indukcióját is. Ugyanis a kísérletes körülmények közt kiváltható endogén adaptációs válaszreakciók nagy hátránya, hogy indukálásukhoz iszkémia-reperfúziós trauma szükséges, ezért a humán klinikai gyakorlatban - bármely kecsegtető is, a kísérletes tapasztalatok – alkalmazhatósági köre szűknek mondható.

A kémiai úton kiváltott prekondicionálás kiküszöböli az iszkémiás prekondicionálásban alkalmazott iszkémia-reperfúziós stresszt, így ennek kockázata nélkül hozza létre a szív védettségét, fokozza a miokardium iszkémia toleranciáját.

A szívsebészeti technika fejlődése egyre biztonságosabbá teszi a szíven végzett beavatkozásokat, de a műtétek során a miokardium iszkémia-reperfúziós károsodása elkerülhetetlen. Extrakorporális keringés alkalmazásával, és anélkül (off-pump) végzett beavatkozások alkalmával a miokardium hosszabb-rövidebb időre iszkémiás állapotba kerül. A szíven végzett beavatkozások előtt alkalmazható farmakológiai prekondicionálás nagymértékben növelné a műtétek biztonságát, csökkentené a postoperatív mortalitási kockázatot.

## HIPOTÉZIS ÉS TUDOMÁNYOS, KLINIKAI HÁTTÉR

A fejlett ipari országokban a morbiditási és mortalitási statisztikák vezető helyén állnak az iszkémiás szívbetegségek. Az akut koronária elzáródás okozta miokardiális iszkémia és ezt követő infarktus okozta halálozás megelőzésére és kezelésére irányuló törekvések alapvető fontosságúak az orvosi kutatásokban. A World Health Organization (WHO) előrejelzése szerint az iszkémiás szívbetegség és annak következményei 2020-ban is vezető halálokként fognak szerepelni, következményeként a jóléti társadalmak ún. civilizált – elhízás, mozgáshiány, stressz, diabetes - életvitelének. Az új terápiás protokollok kidolgozása lehetővé tette a csökkent keringésű miokardium területek vérellátásának minél rövidebb időn belüli javítását, (trombolízis, koronária angioplasztika, sztentek alkalmazása, revaszkularizációs műtétek,) megfelelő keringést biztosítva a szívizom számára.

A hipoxiás miokardium keringésének helyreállítása a **revaszkularizáció** során azonban kétélű fegyver a kezünkben. Bár a véráramlás helyreállítása védelmet nyújt a további iszkémiás miokardium károsodástól, ugyanakkor számolni kell az iszkémiás-reperfúziós károsodások lokális (miokardium, tüdő) és szisztémás (Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS)) szövődményeinek kialakulásával is.

A reperfüziós károsodás (reperfusion injury) egyik alapvető oka, hogy a korai reperfüzió alatt nagy mennyiségben keletkező oxigén szabadgyököket nem tudja közömbösíteni az endogén antioxidáns rendszer és kialakul a különböző súlyosságú **oxidatív stressz**. Az oxidatív stressz ismert celluláris következményei: a membrán lipid peroxidáció fokozódása, membrán fehérje szerkezeti elváltozások, különböző ioncsatornák és receptorok károsodása, valamint DNS denaturáció. Mindezen patológias elváltozások az intracelluláris ion homeosztázis megváltozásához, a sejtmembrán permeabilitás fokozódásához, a kalciumion kontrollálatlan intracelluláris beáramláshoz és sejthalálhoz vezetnek.

Az utóbbi évek kutatásai felfedték azt, hogy bizonyos esetekben az oxigén szabadgyökök pozitív szerepe is feltételezhető a hipoxia-reoxigenizációs szindrómában, amely jelenség az iszkémiás prekondicionálás folyamatában vált ismertté. Az iszkémiás prekondicionálást (PC) Murry és mts irták le először miszerint: rövid időtartamú iszkémiás ciklusokat követően a miokardium védeltsége fokozódik egy hosszabb, súlyosabb iszkémiás inzultussal szemben. Ezt, mint a szívizom gyors adaptatív válaszát a hipoxia-reoxigenizáció okozta oxidatív stresszre, *klasszikus prekondicionálásnak* nevezték. Ez a védelem azonnal kialakuló, rövid időtartamú (1-3 óra) és megnyilvánul az infarktus terület nagyságának csökkenésében, funkcionális javulásban. További kutatások az iszkémia-reperfüziós károsodások elleni sejtszintű védelem második hullámát is igazolták. Ez a védelem az eredeti prekondicionáló ingert követően 24 óra múlva alakul ki és 72 óráig tart. Ezt a jelenséget, megkülönböztetve az azonnal kialakuló klasszikus PC-től *késői prekondicionálásnak* (second window of protection SWOP) nevezték. A korai és késői PC adaptációs válaszában alapvető különbsége, hogy amíg a korai PC reverzibilis metabolikus folyamatok indukálásával éri el a protekciót (ATP szenzitív kálium csatornák nyitása), a késői PC során gén expresszió, új fehérjék (hősokk fehérjék (HSP 72, 27, 32), antioxidáns enzimek: MnSOD, nitrogén monoxid szintáz, és hemoxigenáz) szintézise történik.

Jelenleg számos tudományos munka és saját kutatásaink is a prekondicionálás intracelluláris jelátalakító folyamatainak, jelátvivő mediátoroknak és a transzkripciós faktoroknak molekuláris szintű vizsgálatával foglalkozik.

A PC folyamatának eddig igazolt triggerei: az adenzin, katekolaminok, bradykinin, nitrogén monoxid (NO), opioidok és az oxigén szabadgyökök .

Az adaptáció szignálfolyamataival foglalkozó kutatások legújabb eredményei azt mutatják, hogy a késői PC intracelluláris jelátviteli kaszkádjában kulcsfontosságú szerepe van a **nukleáris faktor (NF)-kB** transzkripciós faktornak. Az NF-kB dimer protein inaktív állapotban a sejt citoplazmájában található, és a sejtet ért stressz ingerre aktiválódik és a sejtmagba transzlokálódik. A transzkripciós faktor DNS-hez kötődése az NF-kB-kapcsolt gének expressziójához vezet, amelyek különböző szignál és protektív fehérjéket kódolnak. Feltehetően ezen fehérjék (superoxid-dizmutáz, kataláz, **cyclooxygenáz-2**, 12 lipoxigenáz, ferritin H lánc, hősokk fehérjék, nitrogén-monoxid szintáz, **hemoxigenáz**, **urocortin**) tehetőek felelőssé a sejtszintű védelemért a késői PC-ben.

## RÉSZLETES BESZÁMOLÓ

### NUKLEÁRIS FAKTOR-kB ÉS AKTIVÁTOR PROTEIN-1 AKTIVÁCIÓJA A MIOKARDIUM ISZKÉMIÁS PREKONDITIONÁLÁSÁBAN

Kutatásaink során a szívizom endogén adaptációs mechanizmusait vizsgáltuk, részletesen tanulmányoztuk az iszkémiás prekondicionálás jelátviteli folyamatait. A nukleáris faktor(NF)kB és aktivátor protein(AP)1 transzkripciós faktorok aktivációjának és nukleáris transzlokációjának döntő szerepe van a késői ischaemiás prekondicionálás (PC) intracelluláris jelátviteli folyamataiban. Mivel ezen faktorok indukciójának dinamikája kevésbé ismert a PC folyamatában, jelen munkánkban az AP1 és NFkB indukciójának és DNS kötő aktivitásának időbeni változásait követtük in vivo kísérletekben.

24 db nyúl (New Zealand White) intratrachealis iv. narkózisban median thoracotomiát követően ischaemiás PC-t végeztünk a bal elülső leszálló koronária (LAD) 5 perces elzárásával. Az 5 perces ischaemiát követően 10 és 30 perces, majd 1, 2, 3, 4 órás reperfüzió után a károsított szívizomterületből vett szövetmintákban vizsgáltuk a transzkripciós faktorok aktivációjára utaló DNS kötő kapacitását electrophoretic mobility shift assay (EMSA) módszerrel. További 12 nyúl azonos körülmények között 2x-, 3x-, ill.4x 5 perces ischaemias PC-t követően 30 perces reperfüziót követve vizsgáltuk az NFkB és AP-1 aktivitását.

A prekondicionált szívizomban szignifikáns ( $p < 0.05$ ), kétfázisú NFkB aktiválódást észleltünk az egyciklusú PC-t követő reperfüzió 30. percében ill. 3. Órájában, míg az AP1 aktiváció a reperfüzió 1. órájának végére érte el maximumát. A PC ciklus számának emelésével a transzkripciós faktorok aktivációja hasonló dinamikával történt.

Eredményeink azt mutatják, hogy az NFkB és az AP1 aktivációja jellegzetes időgörbét mutat, és az aktiváció mértékét az alkalmazott PC ciklusok száma csak kis mértékben befolyásolja.

## AZ ACETILSZALICILSAV HATÁSA A SZÍVIZOM ENDOGÉN ADAPTÁCIÓJÁRA

Kísérleteinkben az acetilszalicilsav hatását vizsgáltuk a szívizom késői iszkémiás prekondicionálásában (PC). Vizsgáltuk, hogy az acetilszalicilsav milyen mértékben befolyásolja a késői PC infarktus csökkentő hatását, és milyen dózisban gátolja a PC jelátviteli folyamataiban kulcsfontosságú transzkripciós faktor, a nukleáris faktor-kB aktivációját. Nyúl modellen 4 ciklusban 5 perces koronária okklúzióval iszkémiás PC-t hoztunk létre. A gyógyszerrel kezelt csoportokban a PC előtt 20 perccel három különböző dózisban (5mg/kg; 25 mg/kg; 130 mg/kg iv.) acetilszalicilsavat adtunk az állatoknak. 30 perccel a PC után az iszkémiás területről szívizom szövetmintát vettünk, és meghatároztuk a nukleáris faktor-kB (NF-kB) aktivációját EMSA módszerrel. 24 óra múlva, 30 perc iszkémiát (LAD elzárás) és 2 óra reperfüziót követően tryphenyltetrazolium-klorid (TTC) festéssel meghatároztuk az infarktus kiterjedését. Eredményeink azt mutatták, hogy az alacsony (antitrombotikus) és közepes (fájdalomcsillapító és gyulladáscsökkentő) dózisban alkalmazott acetilszalicilsav nem befolyásolta az NF-kB aktivációját és a késői védelem kialakulását a prekondicionált miokardiumban, viszont a magas, szubtoxikus dózis meggátolta a transzkripciós faktor indukcióját és a késői adaptáció védő hatását is. Kísérleteink bizonyították, hogy az acetilszalicilsav a klinikumban használt trombózis profilaxis, és gyulladáscsökkentő, antireumatikus dózisban nem befolyásolják a késői PC kardioprotektív hatását, viszont magas dózisban meggátolja a szívizom endogén adaptációs válaszainak kialakulását.

## OXIDATÍV STRESSZ ÉS GYULLADÁSOS VÁLASZREAKCIÓK MÉRTÉKÉNEK VIZSGÁLATA HAGYOMÁNYOS ÉS PUMPA NÉLKÜLI KORONÁRIA MŰTÉTEKBEN: AZ EXTRACORPORALIS KERINGÉS HATÁSÁNAK MEGITÉLÉSE

Az extracorporalis keringésben végzett koszorúsér műtétek során számolni kell iszkémiás-reperfüziós károsodásokkal, melyek számos nemkívánatos szövődményhez vezethetnek.

Ennek csökkentésére dolgozták ki az ún. off-pump technikát, a dobogó szíven történő koronária műtéteket. Jelen vizsgálataink során kardiológiai beteganyagon tanulmányoztuk az extracorporális keringés (on-pump) alkalmazásának, illetve a szívpumpa nélküli (ún. off-pump) technikának az oxidatív stresszre és agyulladáshoz vezető markerekre kifejtett hatásait.

Prospektív, randomizált vizsgálatainkba 20 extracorporális keringéssel (cardiopulmonaris bypass: CPB) operált és 10 „off-pump”(OP) műtéten átesett beteget vontunk be, akiknél a vizsgálati protokoll szerint a műtét alatt többször, illetve a posztoperatív 1-3. és 7. napon perifériás vérmintákat vettünk. A vérmintákban meghatározzuk a lipidperoxidáció mértékét jelző malondialdehid koncentrációját, és az antioxidáns enzimek (superoxid dizmutáz, kataláz, redukált glutation) aktivitását, valamint a pro- és antiinflammatorikus citokinek arányát.

A plazma malondialdehid (MDA) szintje a CPB csoportban a műtétet követő reperfüzió korai szakaszában már szignifikáns emelkedést mutatott, mely érték a posztoperatív harmadik napig magas volt, jelezve a fokozott lipidperoxidáció mértékét. A hetedik napra az MDA szintje a műtét előtti kiindulási értékre csökkent. Az off-pump technikával operált betegek MDA értékei a második napon mutattak enyhe emelkedést, azonban ezek az eltérések a kontroll értékhez képest nem voltak szignifikánsak. A superoxid dizmutáz (SOD) aktivitása a megfigyelt időszakban a CPB csoportban mindvégig alacsonyabb szintet mutattak, mint az OP csoportban, az extracorporális keringést követően a SOD aktivitása a harmadik napig folyamatosan csökkent. A redukált glutation értékei mindkét csoportban az iszkémia és a korai reperfüzió alatt erősen csökkentek, majd a CPB csoportban egészen a hetedik napig alacsonyszinten maradtak, míg az OP csoportban fokozatos emelkedést mértünk. További eredményeink a szisztémás gyulladásos válaszreakciók szignifikáns csökkenését mutatták a működő szíven végzett OPCAB beavatkozások esetében, a TNFalfa, IL1,IL6 és a IL10 arányának kedvező változásával.

Eredményeink az extracorporális keringés hatására kialakuló oxidatív stressz és szisztémás gyulladásos reakció kialakulásának, mértékének és így esetleges terápiás befolyásolhatóságának pontosabb megértéséhez járultak hozzá. Annak kimutatása, hogy a dobogó szíven végzett bypass műtéteknél az antioxidáns-prooxidáns státusz és sejt aktiváció kedvezően változott, az új technikával operált betegek gyorsabb gyógyulására ad magyarázatot.

## SEJTSZINTŰ ADAPTÁCIÓ VIZSGÁLATA ISZKÉMIÁS SZÍVBETEGEK MIOKARDIUMÁBAN

Krónikus iszkémiás szívbetegségben (ISZB) a miokardium sejtszintű endogén adaptációs rendszereit felhasználva próbál alkalmazkodni a folyamatos iszkémiás állapothoz. A celluláris adaptáció során fokozódik az antioxidáns enzimek, stresszproteinek szintézise, amely fehérjék expressziójában a nukleáris faktor-kB (NFkB) transzkripciós faktornak döntő szerepe van.

Vizsgálataink célkitűzése az volt, hogy a mitrális billentyű betegsége miatt billentyűbeültetésre kerülő betegekből vett szövetmintákban meghatározzuk az NFkB aktivitását az iszkémiával társult, illetve - referenciacsoportként - az iszkémia nélküli betegeknél.

Tanulmányunkban 12 mitrális billentyűinsufficiencia-, illetve sztenózis miatt műbillentyű beültetésre kerülő betegből, a beteg billentyű eltávolítása során rezezált papilláris izomból szövetmintát vettünk. A szövetmintákat két csoportba osztottuk: az első csoportba azon betegek mintái tartoztak (5 beteg), akiknek a billentyűelégtelenség mellett nem volt ismert iszkémiás szívbetegségük (referencia csoport), a második csoportba sorolt betegeknél a protézist indikáló billentyűbetegség mellett ismert, klinikailag igazolt krónikus iszkémiás szívbetegség is jelen volt (7 beteg). A szövetmintákból magfehérje frakciót izoláltunk,

amelyben Oxford-Biomed NFkB ELISA kittel mértük az NFkB mennyiségét a sejtmagban. Eredményeink szerint azoknál a betegeknél, ahol a billentyűbetegség iszkémiával társult az NFkB mennyisége a sejtmagban szignifikánsan emelkedett a referencia csoporthoz hasonlítva. Ez alátámasztotta azon feltevésünket, miszerint az ISZB-s betegek miokardiumában az endogén adaptáció jelátviteli folyamata megváltozott, az NFkB szignalizációs útja folyamatosan aktivált állapotban van, tovább már nem indukálható. Ez a megfigyelés magyarázatot adhat arra a kérdésre, hogy miért nem váltható ki klinikailag is jelentős védelem prekondicionálással iszkémiás szívbeteg miokardiumában.

## AZ UROCORTIN EXPRESZIÓJÁNAK VIZSGÁLATA A PREKONDITIONÁLT SZÍVIZOMSEJTÉKBEN

Az iszkémiás prekondicionálás a szívizom stresszre adott endogén, sejtszintű adaptációs válasza, mely során rövid iszkémiás-reperfúziós ciklusokat követően fokozódik a miokardium toleranciája egy későbbi súlyos ischaemiás károsodással szemben. A legújabb kutatások szerint a szív- és érrendszerben termelődő urocortin nevű endogén peptidnek vazodilatatív, antiapoptotikus, pozitív inotrop és további jelentős kardioprotektív hatása van. Emellett kísérletes körülmények között a IPC-hoz hasonló védő hatást fejt ki.

Munkánk célja szívizomsejtenyészeteken az optimális prekondicionálási protokoll kifejlesztése volt, melynek során az urocortin termelődésének időbeli lefolyását kívántuk monitorozni.

Újszülött patkány kamrai szívizomzatából izolált sejteket 3, 4, és 6 óra iszkémiának kitéve vizsgáltuk a károsodás mértékét nekrozis enzimek (kreatin-kináz, laktát-dehidrogenáz), vitál festés (tripán kék), és apoptózis meghatározásának segítségével. Ugyanezen paramétereket vizsgáltuk, miután a sejteket különböző idejű iszkémiás prekondicionáló stimulusnak (5, 10, ill. 20 perces iszkémiás stimulusokat 10 perces reperfúzió követte) és teszt iszkémiának (3 óra) tettük ki. Munkánk második részében az urocortin expressziójának dinamikáját követtük fluoreszcein és precipitációs immunhisztokémiai módszerrel.

Eredményeink szerint a 10 perces IPC protokoll megfelelő sejtvédelmet indukál a hosszan tartó hypoxia ellen. Az urocortin termelődése már az iszkémiás stresszt követő 2. órától elindul, az újonnan szintetizálódott fehérje azonban csak a 18 óra elteltével jelenik meg.

Kísérleteink igazolták, hogy az urocortin sokrétű stresszregulációs szerepén kívül valószínűleg a sejteket ért oxigén hiányos állapotokban és az IPC folyamatában is jelentős szerepet játszik. További kutatások szükségesek azonban tényleges funkciójának tisztázására, elsősorban az IPC-t követő jelátviteli folyamatok megváltoztatásában.

## HEMOXIGENÁZ\_1 EXPRESSZIÓJA ÉS CYTOPROTEKTIV HATÁSA A MIOKARDIUM KÉSŐI PREKONDITIONÁLÁSÁBAN

Az iszkémiás prekondicionálás a miokardium sejtszintű, endogén stresszadaptációs válasza, mely során fokozódik a szívizomsejtek toleranciája későbbi súlyosabb iszkémiás-reperfúziós (IR) inzultusokkal szemben. Kísérletes vizsgálatokban kimutatták a hemoxigenáz-1 (HO-1) hősokkfehérje szívizomsejt védő szerepét oxidatív stresszben. Munkánkban vizsgálni kívántuk a késői prekondicionálás során a HO-1 expresszióját és az enzim védő hatását szívizomsejtek IR károsodásával szemben.

Újszülött patkány kardiomiocitákban iszkémiás és farmakológiai (adenozin, adrenalin, opioid) prekondicionálást (PC) végeztünk (I. csoport), majd 24 óra múlva tesztiszkémiát követően vizsgáltuk a sejtek károsodását: mértük a médium laktát dehidrogenáz (LDH) koncentrációját, meghatároztuk a sejtekben az apoptózis és nekrozis mértékét, valamint az élő/halott sejtek

arányát. A második (II.) csoportban a tesztiszkémia előtt cink-protoporphyrin (ZnPPIX) adásával gátoltuk a HO-1 enzim aktivitását, míg a harmadik (III.) csoportban a PC-t követően HO-1 specifikus siRNS adásával blokkoltuk a HO-1 fehérje expresszióját. A kontroll csoportban (IV. csoport) PC nélkül csak tesztiszkémiát hoztunk létre. Valamennyi csoportban a kezelést követően 24 órával immunhisztokémiai festéssel detektáltuk a HO-1 expreszióját. Eredményeink azt mutatták, hogy a prekondicionálás az LDH szekrécióját a kontroll csoporthoz képest szignifikánsan csökkentette. A PC csoportokban az apoptózis és sejtnekrózis aránya szignifikánsan kisebb volt a kontroll csoporthoz képest. A ZnPPIX és siRNS adása a PC protektív hatását megszüntette, az LDH megemelkedett, az apoptózis és a sejtpusztulás jelentősen fokozódott. A HO-1 immunhisztokémia a PC csoportokban az enzim egyértelmű expresszióját mutatta, amelyet a PC-t követő siRNS kezelés meggátolt. Eredményeink azt mutatják, hogy az iszkémiával, illetve gyógyszerrel végzett késői prekondicionálás során fokozódik a HO-1 expressziója. Igazoltuk, hogy az enzimnek szerepe van a késői PC kardioprotektív hatásában az IR inzultust követő apoptózis, és nekrózis esetében.

## AZ UROCORTIN JELENTŐSÉGE A SZÍVIZOM PRE- ÉS POSZTKONDITIONÁLÁSÁBAN

A szervezet endogén adaptációs mechanizmusai közül jelentős szerep tulajdonítható a pre- és posztkondicionálásnak, melynek következményeként megnövekszik a szervezet ellenállóképessége a különböző, sejteket érő stresszhatásokkal szemben. A legújabb kutatások szerint a szív- és érrendszerben termelődő urocortinnak, mely a corticotrophin releasing faktor család tagja, jelentős kardioprotektív hatása van. Munkánk célja az urocortin hatásának vizsgálata volt szívizomsejttenyészeteken a pre- és posztkondicionálás folyamatában.

Újszülött patkány kamrai szívizomzatából izolált sejteket prekondicionáltunk adenzinnal, iszkémiás stimulussal és urocortinnal (10 perces stimulust 10 perc reperfúzió követte), majd 3 óra teszt iszkémia és 2 óra reperfúziót követően vizsgáltuk a sejtkárosodás mértékét laktát-dehidrogenáz (LDH) kibocsátás, vitál festés (tripán kék), és apoptózis/nekrózis (Annexin V-Propodium-jodid festés) meghatározásának segítségével. A kontroll csoportban a sejteket 3 óra iszkémiának tettük ki, melyet 2 óra reperfúzió követett. A posztkondicionálás vizsgálatához a sejteket különböző idejű (30 és 60 perc) iszkémiás inzultusnak és ezt követően rövid iszkémiás-reperfúziós stimulusnak ill. urocortin kezelésnek tettük ki, majd az előző paraméterekkel meghatároztuk a kardioprotekció mértékét.

Eredményeink szerint a szívizomsejtek általi LDH kibocsátás mértéke, a tripán késsel festődött halott sejtek száma és az apoptotizált, nekrotizált sejtek aránya szignifikánsan csökkent mindhárom prekondicionált csoportban a kontroll csoporthoz képest. A 30 és 60 perces iszkémiát követően az LDH enzim szintje, a halott sejtek mennyisége és az apoptotizált, nekrotizált sejtek aránya szintén csökkenést mutatott az iszkémiás, és az urocortinnal történő posztkondicionálást követően.

Kísérleteink igazolták, hogy urocortinnal történő prekondicionálás -az iszkémiás és az adenzinnal indukált prekondicionáláshoz hasonlóan- ugyancsak hatásos sejt védelmet indukál a szívizomzatot ért hipoxiás károsodásokkal szemben. Továbbá 60 perces hipoxiás stresszt követően az urocortin az iszkémiás posztkondicionálásnál hatékonyabb miokardiális sejtvédelmet idéz elő.

## ISZKÉMIÁS POSZTKONDITIONÁLÁS PROTEKTÍV HATÁSAINAK VIZSGÁLATA HASI AORTA MŰTÉTET KÖVETŐ REPERFÚZIÓS KÁROSODÁSOKBAN

Kísérletes és klinikai modelleken igazolt, hogy a hosszabb iszkémiát követő korai reperfúzióban intermittáló iszkémiás epizódokkal végzett posztkondicionálás (PS) csökkenti a reperfúziós károsodás sejt szintű (oxidatív stressz, apoptózis, nekrozis) és szisztémás (leukocita aktiváció) hatásait a miokardiumban.

Vizsgálataink célja volt, hogy állatkísérletes modellen tanulmányozzuk a PS hatékonyságát perifériás szöveteken.

Whistar patkányokon a hasi aortát lezorítottuk 1 órára. A reperfúzió indulásakor 4x15s-os PS történt. Vérmintákat a véna cava inferiorból vettünk az iszkémia előtt, és a reperfúziót követően 5, 10, 15, 30, 60, és 120 percet követően. Meghatároztuk a serum peroxid szintet, a szérum TNF-alfa koncentrációját, mieloperoxidáz (MPO) aktivitást, és a leukociták indukált szabadgyök termelését. Akt-1 és az extracelluláris szignál regulált kináz (ERK ½) aktivitását néztük a szövetmintákban Western blot analízis segítségével.

A PS csoportokban a plazma peroxidáz szintje a korai reperfúzióban (5-30 min) szignifikánsan alacsonyabb volt, mint a kontroll csoportban. A PS csökkentette a szérum TNF-alfa szintet, MPO aktivitást és a fehérvérsejtek indukált szabadgyök termelését. A posztkondicionálás szignifikánsan növelte mind az Akt-1, mind az ERK ½ aktivitóját., különös tekintettel a szívizomra, a vázizomra .

Hatékonyságát és klinikai alkalmazhatóságát tekintve a PS alkalmas lehetőségnek mutatkozik a sejt és szöveti szintű reperfúziós károsodások csökkentésére.

## PACAP HATÁSA A SZÍVIZOMSEJTEK ISZKÉMIÁS PREKONDICIONÁLÁSÁRA

A neuropeptid pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP) és receptorai számos helyen expresszálódnak a központi idegrendszerben és más szövetekben. A PACAP-nak erős anti-apoptotikus hatása ismert az idegsejtekre és számos más sejttípusra. A peptid jelen van a kardiovaszkuláris rendszerben is. Kimutattuk, hogy a PACAP-nak védő hatása van iszkémia-reperfúzió indukált szívizomsejt apoptózisban. Vizsgáltuk, hogy a PACAP tudja-e fokozni a prekondicionálás védő hatásait.

Szívizomsejteket iszkémiás prekondicionálást követően 2 óra iszkémia-4 óra reperfúzióval tettük ki. Mind a PACAP kezelés önmagában, mind a prekondicionálás szignifikánsan csökkentette a sejthalált és növelte az életképes sejtek számát. Együtt alkalmazva a két kezelést azonban nem tapasztaltunk további védelmet. Eredményeink szerint mind a PACAP kezelésnek, mind a prekondicionálásnak védő hatása van a miokardium iszkémia-reperfúziós károsodásával szemben, azonban hatásuk nem additív.