



**Univerzita Karlova v Praze**

**2. lékařská fakulta**

**POHLAVNÍ ROZDÍLY V ODPOVĚDI SRDEČNÍHO  
SVALU NA NEDOSTATEK KYSLÍKU:  
EXPERIMENTÁLNÍ A KLINICKÉ ASPEKTY**

**Habilitační práce**

**MUDr. Josef Bešík, PhD.**

**Praha 2016**

## PODĚKOVÁNÍ

Úvodem bych rád poděkoval všem, bez kterých by tato habilitační práce sotva vznikla. Na prvním místě musím zmínit velkorysý přístup pana prof. MUDr. Jana Pirka, DrSc., který mi v rámci provozu kardiochirurgické kliniky vytvořil výborné podmínky pro vědeckou, publikační i pedagogickou činnost. Pan prof. MUDr. Bohuslav Ošťádal, DrSc. byl mým školitelem v rámci experimentální práce a jeho nesmírně cenné rady přispěly i k dokončení mé habilitační práce. Pan prof. RNDr. František Kolář, CSc. se významně podílel na mé experimentální práci v rámci oddělení vývojové kardiologie Fyziologického ústavu AV ČR. Pan prof. MUDr. Martin Vízek, DrSc. a paní doc. MUDr. Hana Maxová, PhD. mi umožnili participovat na výuce studentů v rámci Ústavu patologické fyziologie 2. lékařské fakulty UK. Kolega doc. MUDr. Ondrej Szarszoi, PhD. byl a stále je mým hlavním konzultantem při publikační činnosti. Ke spolupracovníkům, kterým rovněž patří můj velký dík za významný podíl na vzniku mé habilitační práce, patří kolegové doc. MUDr. Ivan Netuka, PhD., doc. MUDr. Jiří Malý, PhD. a MUDr. Zuzana Charvátová, PhD. V neposlední řadě pak musím poděkovat své rodině za trpělivost a podporu.

## OBSAH

<b>1.</b>	<b>ÚVOD</b>	<b>6</b>
<b>2.</b>	<b>POHLAVNÍ ROZDÍLY A KARDIOVASKULÁRNÍ SYSTÉM</b>	<b>8</b>
2.1	Pohlavní odlišnosti srdečního svalu za fyziologických podmínek	8
2.2	Pohlavní odlišnosti za patologických podmínek	10
<b>3.</b>	<b>POHLAVNÍ ROZDÍLY V ODPOVĚDI SRDEČNÍHO SVALU NA NEDOSTATEK KYSLÍKU – EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST</b>	<b>13</b>
3.1.1	Ischémie a hypoxie myokardu	13
3.1.2	Ischemické poškození myokardu	15
3.1.3	Reperfuzní poškození myokardu	16
3.1.4	Zánik srdeční buňky	19
3.2	Pohlavní odlišnosti – ischemicko-reperfuzní poškození v experimentu	20
3.3	Pohlavní rozdíly v odolnosti hypertrofického srdečního svalu k ischemii (příloha č. 1)	23
3.4	Vliv perinatální hypoxie na odolnost srdečního svalu k ischemii (příloha č. 2)	30
3.5	Možné příčiny pohlavních rozdílů	33
<b>4.</b>	<b>POHLAVNÍ ROZDÍLY V ODPOVĚDI SRDEČNÍHO SVALU NA NEDOSTATEK KYSLÍKU – KLINICKÁ ČÁST</b>	<b>37</b>
4.1	Ischemicko-reperfuzní poškození v klinické medicíně	37
4.1.1	Biochemické markery nekrózy myokardu	39
4.2	Pohlavní rozdíly – akutní koronární syndrom (ACS)	40
4.3	Pohlavní rozdíly – kardiovaskulární intervence pro ACS	41
4.4	Pohlavní rozdíly – kardiochirurgické operace	43
4.4.1	Pohlavní rozdíly v pooperačním průběhu u pacientů po náhradě aortální chlopně (příloha č. 3)	45
4.5	Transplantace srdce – riziko I/R poškození	50
4.5.1	Transplantace srdce – pohlavní rozdíly	55
4.5.2	Markery buněčné smrti v dárcovském myokardu při primárním selhání štěpu (příloha č. 4)	57
4.5.3	Citlivost mužského a ženského myokardu k ischemii během transplantace srdce (příloha č. 5)	63

<b>5.</b>	<b>SOUHRN</b>	74
<b>6.</b>	<b>ZÁVĚR</b>	76
<b>7.</b>	<b>LITERATURA</b>	77
<b>8.</b>	<b>PŘÍLOHY</b>	98

## SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

- ACB – aortokoronární bypass  
ADP – adenosindifosfát  
AIM – akutní infarkt myokardu  
AMP – adenosinmonofosfát  
AP – angina pectoris  
AST – aspartátaminotransferáza  
ATP – adenosintrifosfát  
AVB – atrioventrikulární blokáda  
BARI – Bypass Angioplasty Revascularisation Investigation (klinická studie)  
Bcl-2 – B-cell lymphoma protein 2  
BMI – body mass index  
BNP – mozkový natriuretický peptid (angl. brain natriuretic peptide)  
BSA – tělesný povrch (angl. body surface area)  
CoA – koenzym A  
CK – kreatinkináza  
CK-MB – myokardiální izoenzym kreatinkinázy  
cTnI – srdeční troponin I  
cTnT – srdeční troponin T  
(+dP/dt)/max – maximální vyvinutý tlak za časovou jednotku  
EF – ejekční frakce  
EKG – elektrokardiografie  
eNOS – endoteliální NO syntáza  
ER – estrogenový receptor  
HDL – high density lipoprotein  
HPF – high power field  
hs-cTnI – high specific cTnI  
hs-cTnT – high specific cTnT  
HSP – stresové proteiny (heat shock proteins)  
ICHS – ischemická choroba srdeční  
IKEM – Institut klinické a experimentální medicíny  
IM – infarkt myokardu

I/R – ischemicko-reperfuzní  
ISHLT – International Society for Heart and Lung Transplantation  
 $K_{ATP}$  – draslíkové ATP dependentní kanály  
KMP – kardiomyopatie  
LDH – laktát dehydrogenáza  
LDL – low density lipoprotein  
LK – levá komora  
L-NAME – N $\omega$ -Nitro-L-arginine methyl ester hydrochlorid  
LVDP – tlak vyvinutý levou komorou (left ventricle developed pressure)  
MPT – mitochondrial permeability transition  
mRNA – messenger RNA  
MVD – multivessel disease (postižení více věnčitých tepen)  
MSP – mechanická srdeční podpora  
NAP – nestabilní angina pectoris  
NO – oxid dusnatý  
NSTEMI – infarkt myokardu bez elevace ST úseku na EKG  
NYHA – New York Heart Association  
OTS – ortotopická transplantace srdce  
PAR – plicní arteriolární rezistence  
PCI – perkutánní koronární intervence (angl. percutaneous coronary intervention)  
PGC-1 – peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1  
PGD – primární selhání štěpu (angl. primary graft failure)  
PK – pravá komora  
PKC – proteinkináza C  
PLA<sub>2</sub> – fosfolipáza A<sub>2</sub>  
PLC – fosfolipáza C  
PTCA – perkutánní transluminální koronární angioplastika  
pO<sub>2</sub> – parciální tlak kyslíku  
PRA – panel reaktivních protilátek  
QTc – korigovaný interval QT  
RNA – ribonukleová kyselina  
SR – sinusový rytmus  
SHR – spontánně hypertenzní potkan (ang. spontaneously hypertensive rat)

STE – elevace úseku ST na EKG (angl. ST elevation)

STEMI – infarkt myokardu s elevací ST úseku na EKG

TNF – tumor necrosis factor

TTC – 2,3,5-trifenylnitroimidazolium chlorid

TUNEL – terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT)-mediated dUTP nick end labeling

WKY – laboratorní potkan kmene Wistar-Kyoto

WU – Woodova jednotka (angl. Wood Unit), jednotka plicní arteriální rezistence

## 1. ÚVOD

Je známo, že pohlaví má vliv na výskyt a průběh řady onemocnění. Ženy jsou ve srovnání s muži více ohroženy depresemi, rozvojem osteoporózy, výskytem astmatu nebo bronchogenním karcinomem plic v důsledku kouření (Ošťádal 2008). U žen je častější výskyt některých autoimunitních chorob, např. systémový lupus erytematodes nebo Sjogrenův syndrom je ve věkové skupině 15-40 let až 10krát častější u žen. U žen je rovněž vyšší výskyt chorob pojivové tkáně a nemocí, jejichž podkladem je abnormální reaktivita cév, jako jsou například migrény nebo Raynaudův syndrom. Častější jsou u žen například i vaskulitidy (Mathur a spol. 2015). Počet klinických i experimentálních prací, které se zabývají pohlavními rozdíly kardiovaskulárního systému, v posledních letech trvale stoupá; podle údajů Web of Science bylo ještě v roce 1989 množství těchto prací zanedbatelné. Příčinou rostoucího zájmu jsou zřejmě dvě skutečnosti: jednak přibývá důkazů o odlišném chování mužského a ženského srdce za fyziologických a patofyziologických podmínek a také se objevily rozporuplné zprávy o prospěšnosti či škodlivosti hormonální substituční terapie.

Dle údajů Světové zdravotnické organizace (WHO) jsou v rozvinutých zemích včetně České republiky právě choroby srdce a cév nejčastější příčinou úmrtí. Více než polovinu z tohoto množství zaujímá jediné onemocnění, kterým je ischemická choroba srdeční (ICHS). V roce 2008 zemřelo na ICHS ve světě 7,3 milionu lidí, což je více než na infekční choroby. Ischémie myokardu vzniká jako důsledek nerovnováhy mezi množstvím kyslíku, dodávaného srdeční buňce a množstvím kyslíku, které buňka aktuálně potřebuje ke splnění metabolických nároků. Při ischemii je kromě dodávky živin narušen i odvod metabolitů. Následkem je přechod srdečního svalu na anaerobní metabolismus, rozvoj acidózy a porucha energetické a iontové homeostázy; to vede k poruchám kontraktility a konečným důsledkem omezení perfuze myokardu může být zánik srdeční buňky a vznik infarktu myokardu.

Rozsah ischemického poškození srdečního svalu závisí nejen na intenzitě a trvání ischemického inzultu, ale také na odolnosti srdce k nedostatku kyslíku. Tento parametr se v průběhu života charakteristickým způsobem mění: obecně lze říci, že odolnost myokardu k ischemii je nejvyšší těsně po narození a pak v průběhu života postupně klesá. U dospělých, hormonálně aktivních jedinců, vykazuje odolnost srdečního svalu k ischemii pohlavní odlišnost; samičí srdce jsou významně odolnější než srdce samčí. Odolnost myokardu k nedostatku kyslíku klesá rovněž u některých patologických stavů, například u rozvinuté hypertrofie srdečního svalu, která provází některá častá onemocnění moderního věku – především systémovou hypertenzi nebo zúžení aortální chlopně.



## 2. POHLAVNÍ ROZDÍLY A KARDIOVASKULÁRNÍ SYSTÉM

Jak bylo uvedeno v úvodu, pohlaví má vliv na řadu onemocnění. Nemoci srdce a cév bezpochyby patří mezi onemocnění, kde se pohlavní rozdíly významnou měrou uplatňují. Přítomnost pohlavních rozdílů byla zaznamenána u ischemické choroby srdeční, u arteriální hypertenze, ve výskytu arytmií a u srdečního selhání (Ošťádal 2008, Ošťádal a spol. 2009).

### 2.1 Pohlavní odlišnosti srdečního svalu za fyziologických podmínek

Pohlavní rozdíly nalézáme i u zcela zdravých jedinců za fyziologických okolností. Jedním ze základních parametrů je hmotnost srdce. Zatímco v období před pubertou se hmotnost srdce mužů a žen neliší, v dospělosti se srdce zvětšuje více u mužů. Mužské srdce je v průměru asi o 15-30 % těžší než srdce ženské. Tento rozdíl ve hmotnosti srdce je částečně způsoben rozdílem v tělesné konstituci a celkové tělesné hmotnosti mezi muži a ženami, avšak i relativní hmotnost srdce je u mužů významně větší než u žen. V průběhu života se relativní hmotnost srdce u mužů snižuje, kdežto u žen se v průběhu života významně nemění (Ošťádal a spol. 2009).

Již počátkem minulého století pozoroval Bazzet (1920), že ženy mají vyšší klidovou tepovou frekvenci než muži, zhruba o 3-5 pulzů za minutu (Burke a spol. 1996). Délka sinusového cyklu u žen je kratší než u mužů; během menstruace se prodlužuje (Burke a spol. 1997). Ženy mají ve srovnání s muži delší trvání akčního potenciálu a vzhledem k tepové frekvenci korigovaný QT interval (Stramba-Badiale a spol. 1997). Tento rozdíl se objevuje se začátkem puberty a je přisuzován relativnímu zkrácení QTc intervalu u mužů (Rautaharju a spol. 1992). Při stejné tepové frekvenci je i nekorigovaný QT interval delší u žen než u mužů (Smetana a spol. 2004, Rautaharju a spol. 2014). Zotavovací čas sinusového uzlu je u žen naopak kratší než u mužů (Burke a spol. 1997, Villareal a spol. 2001).

V závislosti na pohlaví se liší i hodnoty krevního tlaku u adolescentů a dospělých před dosažením 60. roku. Průměrná hodnota systolického tlaku u mužů je o 6-7 Torrů vyšší než u stejně starých žen, u diastolického tlaku činí rozdíl 3-5 Torrů. U žen po menopauze krevní tlak stoupá (zejména tlak systolický) a pohlavní rozdíly mizí (Dubey a spol. 2002).

Významný pohlavní rozdíl je v počtu srdečních buněk. Startovní počet kardiomyocytů je u žen a mužů stejný. Avšak zatímco u žen se počet myocytů v průběhu života prakticky nemění, u mužů dochází mezi 17. a 89. rokem života k pravidelnému úbytku myocytů o přibližně 45 miliónů za rok u levé komory a 19 miliónů za rok u komory pravé, což v obou komorách představuje ztrátu zhruba 1% srdečních buněk za rok (Olivetti 1995). Ztráta je u mužů

kompenzována zřejmě zvětšením přežívajících myocytů. Zhang a spol. (2007) porovnáním příčných řezů kardiomyocytů různě starých opic zjistili, že příčný průřez myocytů se v průběhu života u samců zvětšil o 51%, kdežto u samic pouze o 8%. Tento fakt může pravděpodobně souviset s výskytem pohlavních rozdílů v odpovědi srdečního svalu na nedostatek kyslíku.

Studiem výskytu apoptózy v normálních lidských srdcích mezi 21. a 93. rokem věku bylo zjištěno, že přítomnost tohoto typu buněčné smrti byla v mužských srdcích třikrát vyšší než v srdcích žen, přičemž věk tento rozdíl neovlivnil (Mallat a spol. 2001). Obdobně byl zjištěn významný rozdíl ve výskytu apoptózy ve stěně věnčitých tepen, u mužů byl vyšší než u žen (Boddaert a spol. 2005).

V závislosti na pohlaví se liší i funkce srdečního svalu. Echokardiografickým vyšetřováním byla prokázána lepší diastolická funkce myokardu mladých žen ve srovnání se stejně starými muži. S rostoucím věkem docházelo u mužů k postupnému poklesu systolické funkce, u žen tento pokles nebyl pozorován (Grandi a spol. 1992).

Experimentální studie kontraktilní funkce srdečního svalu jsou poněkud rozporuplné. Capasso a spol. (1983) testovali kontraktilitu papilárního svalu 6 měsíců starých potkanů. U samičího svalu zaznamenali významně vyšší rychlost kontrakce a relaxace ve srovnání se samci. Naproti tomu Leblanc a spol. (1998), kteří k experimentu použili papilární sval potkanů mladších 6 měsíců, žádný pohlavní rozdíl v kontraktilní funkci nenalezli. Schaible a Scheuer (1984) pak dokonce poněkud překvapivě na izolovaném pracujícím srdci laboratorního potkana pozorovali vyšší bazální kontraktilní funkci u samců. Důvodem této variability výsledků je pravděpodobně užití různých experimentálních postupů.

V posledních letech přibývá poznatků o pohlavních odlišnostech na molekulární úrovni. K zásadním odlišnostem patří rozdíly v buněčném metabolismu vápníku. Bylo zjištěno, že v samičím srdci je větší množství  $\text{Ca}^{2+}$  kanálů L-typu, ryanodinových receptorů, jež jsou odpovědné za uvolňování  $\text{Ca}^{2+}$  iontů ze sarkoplazmatického retikula a proteinů  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  výměníku, odpovědného za odstraňování  $\text{Ca}^{2+}$  ze srdeční buňky (Chu a spol. 2005). Zvýšená exprese těchto proteinů, které se zásadním způsobem podílejí na řízení koncentrace vápníku v myocytech, byla vždy doprovázena vyšší hladinou mRNA, což nasvědčuje tomu, že jejich regulace se děje na transkripční úrovni. Není bez zajímavosti, že významný rozdíl v expresi uvedených klíčových proteinů byl provázen pouze malým rozdílem v kontraktilní funkci, z čehož vyplývá, že množství bílkovin nic neříká o funkční aktivitě těchto regulačních systémů (Ošťádal a spol. 2009). Pohlavní rozdíly existují rovněž ve vychytávání vápníku v mitochondriích (Arieli a spol. 2004). Mitochondrie samic laboratorního potkana vychytávají vápník v menší míře než

mitochondrie samčích a vykazují též schopnost udržovat stálý membránový potenciál i při vyšších koncentracích vápníku. To by mohla být další z příčin vyšší odolnosti samčího myokardu k ischemicko-reperfuznímu poškození. Colom a spol. (2007) prokázali u potkanů, že v samčích mitochondriích dochází k výrazně nižší produkci volných kyslíkových radikálů ve srovnání s mitochondriemi samců. Tento fakt může mít dopad na odlišný průběh oxidačního stresu při reperfuzi u obou pohlaví a může rovněž přispět k vysvětlení rozdílné odpovědi samčího a samčího myokardu na nedostatek kyslíku.

Chu a spol. (2005) popsali vyšší hustotu beta-adrenergických receptorů na povrchu samčích kardiomyocytů a tedy i větší inotropní odezvu na beta-adrenergní stimulaci. To vede ke zvýšení intracelulární koncentrace vápníku; samčí myocyty jsou proto více než samčí myocyty ohroženy vápníkovým přetížením. I to se může projevit v rámci odlišné reakce na ischemicko-reperfuzní inzult u obou pohlaví.

## **2.2 Pohlavní odlišnosti za patologických podmínek**

Existují-li pohlavní rozdíly srdečního svalu za fyziologických podmínek, pak lze předpokládat, že se kardiovaskulární systém mužů a žen liší i za podmínek patologických. Z chorob srdce se zaměříme na stavy, jejichž četnost je v klinické medicíně nejvyšší. Jejich společným jmenovatelem je nedostatek kyslíku – regionální ischemie v případě ischemické choroby srdeční a globální ischemie při kardiochirurgických operacích (např. chirurgická revaskularizace myokardu či výkony na srdečních chlopních); zvláštní pozornost pak bude věnována operaci s nejdéle trvající globální ischemií – transplantaci srdce.

Epidemiologické studie prokazují, že výskyt ischemické choroby srdeční je u žen zhruba o 10 let zpožděn proti mužské populaci (Vaccarino a spol. 1995), výskyt infarktů je u žen opožděn dokonce o 20 let. Ženy jsou proti infarktu myokardu do menopauzy chráněny (Rich-Edwards a spol. 1995). Po menopauze stoupá výskyt ICHS u žen více než 10krát, zatímco u mužů stejného věku pouze 4,5krát (Duwall 2003). V této souvislosti je diskutován protektivní vliv estrogenů. Rossouw a spol. (2002) však zjistili, že podávání estrogenů ženám po menopauze kardiovaskulární onemocnění zhoršuje. Příčinou jsou tedy zřejmě pohlavní rozdíly v rozvoji aterosklerotických změn v průběhu života (Fejfar 1975). Tuto domněnku podporují i nálezy nižších hladin LDL a vyšších hodnot HDL u premenopauzálních žen (Ošťádal a spol. 2009). Wilson a spol. (1999) zjistili, že u křečků se stejnou dietou s vysokým obsahem tuků, dochází u samců častěji a rychleji k rozvoji aterosklerotických změn než u samic. Podobné rozdíly byly pozorovány i u králíků (Hayashi a spol. 1995). Při podávání stravy s vysokým obsahem

cholesterolu došlo k výraznějšímu rozvoji aterosklerotického postižení u samců. Není bez zajímavosti, že při shodné dietě byla u samic kromě odlišného lipidového spektra zjištěna rovněž vyšší bazální hladina oxidu dusnatého. Zdá se tedy, že kromě jiných faktorů, může mít na pohlavních rozdílech v patogenezi aterosklerózy podíl i odlišný metabolismus NO.

V posledních letech přibývá prací, které se zabývají pohlavními rozdíly v rozvoji aterosklerózy u člověka. Byla popsána rozdílná distribuce aterosklerotických změn v různých oblastech arteriálního systému u mužů a žen (Mathur a spol. 2015). Kardys a spol. (2007) popsali významné pohlavní rozdíly v rozsahu a stupni aterosklerotického postižení koronárního řečiště, zatímco v aortě a tepnách dolních končetin nebyl pohlavní rozdíl pozorován. Pohlavní rozdíly existují i v morfologii aterosklerotických plátů (Yahagi a spol. 2015). Ve věnitých tepnách mužů byly nalezeny větší aterosklerotické pláty, než u žen; pláty u mužů jsou více excentrické ve srovnání s pláty u žen (Han a spol. 2008). Sangiorgi a spol. (2013) zjistili, že u mužů dochází častěji ke krvácení do aterosklerotických plátů a vyšší je i výskyt ulcerací s nasedající trombózou. Naproti tomu u žen je častější výskyt stabilních kalcifikovaných plátů, s menší infiltrací zánětlivými buňkami, včetně přítomnosti menšího počtu pěnových buněk uvnitř plátů. Současně byla popsána i různá morfologie plátů v průběhu života u žen – u starších žen dochází ke zmenšování fibrózní vrstvy stabilního plátu a zvětšování objemu nekrotického jádra (Yahagi a spol. 2015).

Rozdílná je i reaktivita cév. U mužů je větší rozsah endoteliální dysfunkce a jiných funkčních i strukturálních abnormalit (Han a spol. 2008). Naproti tomu u žen je mnohem častější hyperreaktivita cév, mající za následek vaskulární spasmy a vaskulární dysfunkci na úrovni koronární mikrocirkulace, s klinickými projevy vazospastické anginy pectoris (Sun a spol. 2002). Příčinou je pravděpodobně porucha funkce NO-dependentního vazodilatačního mechanismu (Mohri a spol. 1998). Reis a spol. (2001) zjistili, že koronární mikrovaskulární dysfunkce, spojená s výskytem stenokardií u neokluzivní ICHS, je přítomná výrazně častěji u žen. Rozdíl ve výskytu této poruchy se ještě zvyrazňuje po menopauze (Kaski 2006).

Pohlavní rozdíly v hodnotách krevního tlaku se objevují se začátkem adolescence a ve stejnou dobu se začíná lišit i prevalence hypertenze (Himmelman a spol. 1994). Premenopauzální ženy mají nižší incidenci hypertenze ve srovnání se stejně starými muži, ale tento rozdíl postupně mizí po menopauze. Po 65. roce věku je výskyt hypertenze u žen dokonce vyšší než u mužů; s věkem se rozdíl v incidenci hypertenze v neprospěch žen ještě zvětšuje (Roger a spol. 2011). Příčina uvedeného jevu není dosud zcela vysvětlena a je s největší pravděpodobností multifaktoriální. Hormonální substituční terapie většinou nevede

k významnější redukci krevního tlaku, z čehož vyplývá, že pokles estrogenů velmi pravděpodobně není jedinou příčinou vzestupu krevního tlaku po menopauze (Reckelhoff 2001). Zdá se, že významnou roli hraje odlišná aktivita renin-angiotensinového systému (Schunkert a spol. 1997). Spolupodílet se může nárůst tělesné hmotnosti, oxidativní stres a zvýšení hladiny endotelinu u postmenopauzálních žen (Nuzzo a spol. 2010).

Klinické studie prokázaly pohlavní rozdíly v charakteru hypertrofie levé komory jako odpovědi na zvýšený afterload u stenózy aortální chlopně a u systémové hypertenze. Při stejném či podobném stupni aortální stenózy je dobrá funkce levé komory srdeční zachována častěji u žen než u mužů (Buttrick a Scheuer 1992). Ke stejným závěrům došli i Villari a spol. (1995), kteří při srovnatelném postižení aortální chlopně (plocha ústí aortální chlopně, tlakové gradienty na aortální chlopni), popsali větší end-systolický i end-diastolický objem a současně nižší systolickou funkci levé komory srdeční u mužů ve srovnání se ženami. U mužů byla zaznamenána menší poddajnost levé komory a rovněž odlišné geometrické uspořádání kolagenních vláken. Douglas a spol. (1998) a Weinberg a spol. (1999) pozorovali u potkanů se stenózou vzestupné aorty podobný stupeň hypertrofie u samců jako u samic, avšak u samců byl prokázán časnější přechod do fáze srdečního selhání, manifestujícího se jako dilatace a snížení systolické funkce levé komory. Analogické pohlavní rozdíly byly popsány též u spontánně hypertenzních potkanů (Pfeffer a spol. 1982) a u Dahlových potkanů (Jain a spol. 2002). Tamura a spol. (1999) popsali, že objem kardiomyocytů u SHR potkanů je významně větší u samců ve srovnání se samicemi, což by mohlo naznačovat sníženou adaptační rezervu hypertrofického samčího myokardu. Brower a spol. (2003) zjistili, že rozsah myokardiální remodelace a pokles funkce levé komory u samic po provedené ovariectomii je podobný změnám, popisovaným u samců.

V této souvislosti vyvstává otázka, zda jsou pohlavní rozdíly v srdeční adaptaci na tlakové přetížení důsledkem různé geometrické remodelace srdeční svaloviny nebo jsou, alespoň z části, důsledkem rozdílné genové exprese, která předurčuje vývoj srdečního selhání. Experimentální hypertrofie levé komory, způsobená tlakovým přetížením, je spojena s expresí srdečních genů a izoform, které jsou normálně vyjádřeny za fetálního života (Matsui a spol. 1995). Witt a spol. (2008) popsali u myší pohlavní rozdíly v genové expresi již dva týdny po provedení aortální konstriktce; u samic byla zjištěna významně vyšší exprese genů regulujících mitochondriální funkce a metabolismus (PGC-1, cytochromoxidáza, karnitin palmitoyl transferáza, acyl-CoA dehydrogenáza), zatímco u samců byla vyšší exprese genů pro matrix a biosyntézu bílkovin, především kolagenu.

### **3. POHLAVNÍ ROZDÍLY V ODPOVĚDI SRDEČNÍHO SVALU NA NEDOSTATEK KYSLÍKU – EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST**

#### **3.1.1 Ischémie a hypoxie myokardu**

Hypoxie myokardu vzniká při nepoměru mezi dodávkou a spotřebou kyslíku. Příčinou snížené dodávky kyslíku do myokardu mohou být teoreticky všechny známé mechanismy, které vedou ke vzniku tkáňové hypoxie. Rozlišujeme 4 základní typy hypoxie: ischemickou, hypoxickou, anemickou a histotoxickou.

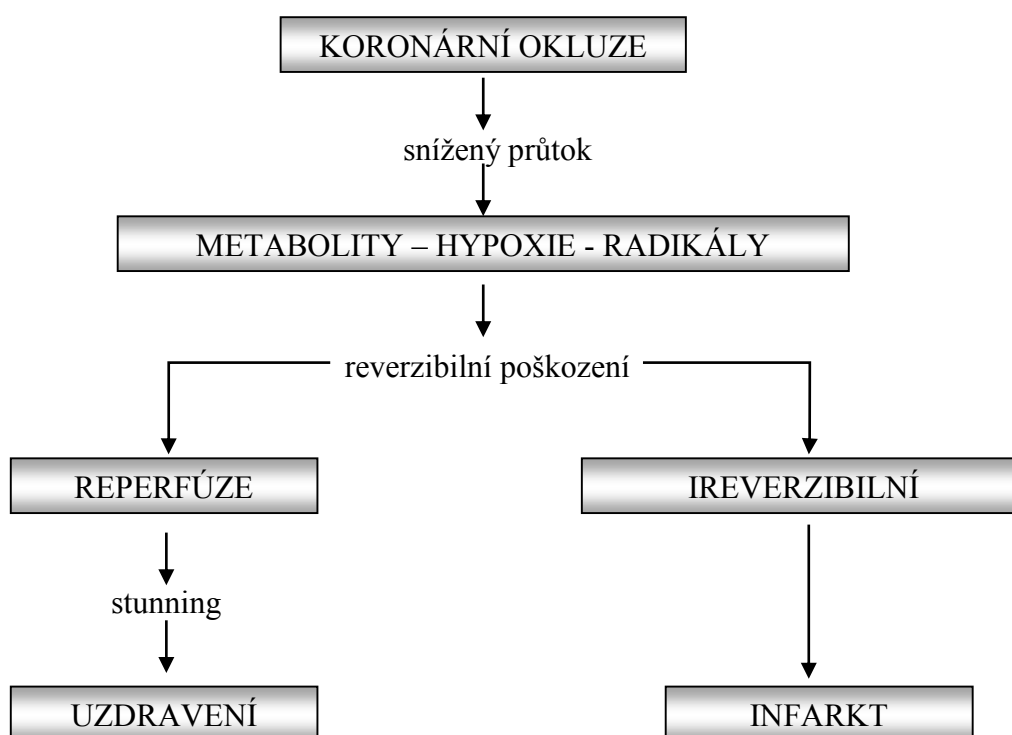
Nejčastější příčinou nedostatečného zásobení srdce kyslíkem je redukce nebo zástava koronární perfúze, nejčastěji trombotickým uzávěrem některé z větví koronárních tepen. Takto vzniklou hypoxii označujeme jako ischemickou hypoxii nebo též srdeční ischémii. Typickým projevem srdeční ischémie je tzv. anginózní bolest, lokalizovaná nejčastěji za hrudní kostí. Klinické projevy vyvolané ischémií označujeme jako ischemickou chorobu srdeční (ICHS). Hypoxická (systémová) hypoxie je charakterizována poklesem parciálního tlaku kyslíku ( $pO_2$ ) v arteriální krvi při normálním průtoku koronárním řečištěm. S hypoxickou hypoxií se setkáváme u pacientů s cor pulmonale různé etiologie, u nemocných s cyanotickými vrozenými srdečními vadami nebo u osob dlouhodobě žijících ve vysokých nadmořských výškách. Při hypoxii anemické je sice arteriální  $pO_2$  normální, ale transportní kapacita krve pro kyslík je v důsledku poklesu množství hemoglobinu snížena. Výskyt anemické hypoxie je vázán zejména na anémii těžšího stupně. Hypoxii, vznikající v důsledku snížené utilizace kyslíku v buňce při dostatečné saturaci i průtoku, označujeme jako histotoxickou. S histotoxickou hypoxií se setkáváme např. při otravě kyanidem při inhibici oxidativních enzymů (přehled viz Ošťádal a Vízek 2005).

V literatuře jsou pojmy ischémie a hypoxie často zaměňovány, přestože se důsledky obou těchto mechanismů na buněčné úrovni zcela zásadně liší (Ošťádal a Kolář 1999). Ischémie i hypoxie jsou sice shodně charakterizovány sníženou dodávkou kyslíku a energetických substrátů do myokardu, ale při ischémii nedochází na rozdíl od hypoxie k odplavování vzniklých metabolitů, především laktátu a vodíkových iontů. Postupná akumulace produktů anaerobní glykolýzy vede k poklesu intracelulárního pH s negativními důsledky na činnost buňky. Naproti tomu u hypoxie jsou tyto nežádoucí metabolity odstraňovány, což má za následek pomalejší rozvoj acidózy. Dalším rozdílem mezi hypoxií a ischémií je skutečnost, že zatímco hypoxie postihuje obvykle celé srdce, ischémie je většinou ohraničena pouze na oblast zásobenou postiženou věnčitou tepnou. S regionálním typem postižení souvisí i vznik dalších patologických projevů ischémie, jako jsou například elektrická nestabilita, výskyt arytmií či poruchy

kontraktility, spojené se vznikem hypokinetických a akinetických zón (přehled viz Ošťádal a Kolář 1988). S globální ischemií se můžeme za určitých okolností setkat i v klinické praxi, například při kardiochirurgických operacích spojených s kardioplegickou zástavou srdeční.

Dále je třeba přesně rozlišovat termíny „ischemie“ a „infarkt“. Ischemie je patofyziologickou změnou, která je při včasné obnově krevního průtoku věnčitou tepnou reverzibilní (tzv. reverzibilní ischemie). Trvá-li však ischemie delší dobu, vyvíjí se ireverzibilní ischemické poškození, charakterizované buněčnou smrtí – infarkt myokardu (obr. 1).

Patologické změny vyvolané ischemií lze rozdělit na poškození ischemické, vzniklé v průběhu uzavření koronárního řečiště části myokardu a poškození reperfuze, vyvolané naopak obnovením koronárního průtoku. Vzhledem k tomu, že v klinické medicíně zpravidla tyto dva mechanismy poškození myokardu na sebe přímo navazují (v případě, že byla provedena obnova koronární perfuze) a nelze je od sebe oddělit, hovoříme při popisu patologických změn o ischemicko-reperfuze poškození.



Obr. 1: Možné důsledky koronární okluze (adaptováno z Ošťádal a Vízek 2005).

### 3.1.2 Ischemické poškození myokardu

Důsledky přerušení dodávky kyslíku se projevují v metabolismu srdečního svalu již během několika vteřin. Velice rychle dochází k rapidnímu úbytku kyslíku v buňkách a aerobní metabolismus se mění na anaerobní. Z každé molekuly glukózy se za anaerobních podmínek tvoří jen 3 molekuly ATP oproti 38 molekulám ATP produkovaným při aerobním metabolismu. To je samozřejmě zcela nedostatečné, neboť jen k udržení iontové homeostázy potřebuje myokard za klidových podmínek 10 mmol ATP/min (přehled viz Ošťádal a Vízek 2005).

Kromě toho, že je anaerobní glykolýza děj energeticky značně neefektivní, je provázena celou řadou nežádoucích změn. V důsledku anaerobní glykolýzy dochází k akumulaci laktátu a dalších kyselých produktů s rozvojem acidózy. S prodlužováním ischemie se postupně zvyšuje koncentrace  $H^+$  a klesá pH. Ionty  $H^+$  ovlivňují interakci aktinu s myozinem, neboť se váží na troponin I a vytěsňují tak  $Ca^{2+}$  z vazby na myofibrily. Acidóza tedy vede k poruchám kontraktility (Karmazyn 1990). Na poruše kontraktility se podílí i nedostatek energie, ischemie vede k rychlému vyčerpání energetických rezerv. Za 20 - 40 minut po začátku ischemie, v době, kdy se ischemie stává ireverzibilní, je koncentrace ATP menší než 10% původního stavu. Dochází k degradaci adeninových nukleotidů (kaskáda degradace: ATP - ADP - AMP - adenosin - hypoxantin). Dvě molekuly ADP mohou být myokinázovou reakcí využity pro vznik jedné molekuly ATP a jedné molekuly AMP (Bing 1965). V důsledku degradace ATP se hromadí anorganický fosfát, který má negativně inotropní účinek na srdeční činnost a snižuje citlivost kontraktilních proteinů k  $Ca^{2+}$ . Fosfátové ionty se v cytosolu váží s  $K^+$  a přispívají ke snížení jeho intracelulární koncentrace (Katz 2001).

S nedostatkem kyslíku se současně výrazně mění i funkce mitochondrií, které za normálních okolností spotřebovávají velké množství kyslíku za účelem tvorby ATP. Při vzniku ischemie je inhibován elektronový transportní řetězec a produkce ATP postupně ustává (Lesnefsky a spol. 1997). Výsledkem je stav, kdy mitochondrie nejenže ATP neprodukují, ale navíc ještě z cytosolu odčerpávají část ATP, vzniklého anaerobní glykolýzou, neboť potřebují energii k udržení membránového potenciálu (Piper a spol. 2006). V přímé souvislosti s poruchou mitochondriálních funkcí dochází při ischemii ke vzniku většího množství volných kyslíkových radikálů, které svým působením na membránově vázané fosfolipidy poškozují sarkolemu (Vanden Hoek a spol. 1997).

Ke vzniku ireverzibilního poškození buňky pak nejvíce přispívá porucha iontové rovnováhy v průběhu ischemie. Okamžitě po vzniku ischemie dochází ke zvyšování intracelulární koncentrace vápníku („calcium overload“). Tento komplexní proces má své příčiny



vně i uvnitř buňky. Extracelulární komponenta zahrnuje vstup menšího množství kalcia výměnou za ionty sodíku a difúzi přes buněčnou membránu, jejíž propustnost je navíc zvýšena v důsledku destruktivního působení volných kyslíkových radikálů. Rozhodující roli při zvyšování intracelulární koncentrace vápníku však hrají příčiny intracelulární. Patří mezi ně vyplavování  $\text{Ca}^{2+}$  ze sarkoplazmatického retikula, při současně omezeném odstraňování  $\text{Ca}^{2+}$  z cytosolu. Odstraňování vápníku z cytosolu v průběhu ischemie je důsledkem potlačení aktivity na ATP závislé sarkolemální vápníkové pumpy, sarkolemálního  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  antiportu a  $\text{Ca}^{2+}$  pumpy sarkoplazmatického retikula (přehled viz Ošťádal a Vízek 2005). Zvýšení intracelulární koncentrace vápníku vede k aktivaci lysozomálních proteáz a fosfolipáz (především fosfolipázy  $\text{A}_2$  -  $\text{PLA}_2$  a fosfolipázy C - PLC). Jejich působením dochází k ultrastrukturálnímu poškození buňky včetně další destrukce již narušených buněčných membrán (Karmazyn 1990). Dále dochází ke stimulaci tvorby volných kyslíkových radikálů, aktivaci latentních kalcium dependentních ATPáz, což přispívá k vyčerpávání zásob ATP a v neposlední řadě dochází k akumulaci vápníku v cytoplazmě v těsné blízkosti kontraktilních bílkovin; následkem je zvýšení klidového napětí v diastole (Ošťádal a Kolář 1999).

Současně s poruchou vápníkové homeostázy vyvolává ischemie další, paralelně probíhající změny. Pokles ATP, nadměrná produkce volných kyslíkových radikálů a vzestup koncentrace palmitoylkarnitinu v důsledku zastavení mitochondriální  $\beta$ -oxidace mastných kyselin vedou k inhibici  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPázy, což má za následek zvýšení koncentrace  $\text{Na}^+$  v cytosolu (Dhalla a spol. 1996). Vysoká koncentrace  $\text{Na}^+$  v cytosolu má spolu s porušenou permeabilitou buněčných membrán negativní dopad na osmotickou kontrolu buňky. Dochází k rozvoji intracelulárního edému srdečních buněk a postupně k úplné ztrátě osmotické kontroly.

Vyčerpání energetických zásob, hromadění volných kyslíkových radikálů, porucha vápníkové homeostázy a ztráta osmotické kontroly srdeční buňky představují základní stupně kaskády, vyvolané zastavením průtoku krve věnčitou tepnou; ta vede ke strukturální desintegraci srdeční buňky a nakonec k její smrti (přehled viz Ošťádal a Vízek 2005).

### **3.1.3 Reperfuční poškození myokardu**

Termínem reperfuze označujeme obnovení průtoku krve (perfuze) v ischemické oblasti. Rozlišujeme reperfuzi spontánní nebo terapeutickou (farmakologická trombolýza, perkutánní koronární angioplastika nebo časná chirurgická revaskularizace pomocí aortokoronárního bypassu). Dojde-li k obnovení průtoku krve v době reverzibilní ischemie (cca 20 – 40 minut od

počátku ischemie), je možná kompletní reparace myokardu. Je-li však reperfúze dosaženo později, ve fázi ireverzibilní ischemie, kdy jsou již vyčerpány energetické zásoby buňky a je plně rozvinuto kalciové přetížení, jsou vyčerpány scavengery volných kyslíkových radikálů a buňka ztratila osmotickou kontrolu, může dojít k poškození i těch buněk, které dosud nepodlehly nekróze a mohly být potenciálně „léčitelné“ (Piper a spol. 1998). Jde o tzv. letální reperfúzní poškození, kdy dochází k nezvratnému poškození myocytů, které byly na počátku reperfúze vlivem ischemie poškozeny „pouze“ reversibilně. Reperfúzní poškození je zodpovědné až za 50% výsledného infarktového ložiska (Marzilli a spol. 2012).

Za vznik letálního reperfúzního poškození myokardu jsou odpovědné zejména dva jevy: prudké zvýšení produkce volných kyslíkových radikálů v okamžiku reperfúze (jev označovaný jako „kyslíkový paradox“) a nekontrolovaný vstup vápníku do nitra srdeční buňky (tzv. „vápníkový paradox“). Při „kyslíkovém paradoxu“ proniká ve fázi časné reperfúze kyslík do buněk, avšak transportní systém elektronů v mitochondriích je vlivem předchozí ischemie narušen. Důsledkem toho je tvorba velkého množství volných kyslíkových radikálů, které významnou měrou poškozují buněčné membrány. Hovoříme o tzv. „oxidačním stresu“ (Piper a spol. 1998). Ukázalo se, že podáním látek, vychytávajících volné kyslíkové radikály, lze poškození myokardu redukovat (Ytrehus 1991). Při „vápníkovém paradoxu“ dochází k nekontrolovanému vstupu vápníku do buněk. Děje se tak zvýšením  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  antiportu, zvýšeným vstupem  $\text{Ca}^{2+}$  vápníkovými kanály a také otvory v ischemií poničené buněčné membráně. Masivní kalciové přetížení vede k mnoha dějům, v jejichž důsledku dochází k nežádoucí aktivaci kontraktilního aparátu. Během reperfúze totiž dochází k obnově tvorby ATP a vápník je sarkoplazmatickou  $\text{Ca}^{2+}$  ATPázou přečerpáván z cytosolu do sarkoplazmatického retikula. Poté, co je kapacita pro vápník překročena, je  $\text{Ca}^{2+}$  ze sarkoplazmatického retikula vyplaven, váže se na kontraktilní proteiny a celý cyklus se znovu opakuje. Dochází tak k cyklické aktivaci kontraktilního aparátu (tzv. „ $\text{Ca}^{2+}$  oscillations“), která může vést k hyperkontraktuře myocytů, mechanickému poškození buněčných membrán a nakonec k smrti takto postižené buňky (Piper a spol. 2006). Vysoká koncentrace vápníku v buňce způsobuje aktivaci řady lipáz, proteáz a proteinkináz, které se podílejí na dalším porušení buněčné integrity (Karmazyn 1990).

Ukázalo se, že velice důležitou úlohu při reperfúzním poškození dospělého srdce hraje tzv. mitochondriální pór přechodné propustnosti (MPT pór, mitochondrial permeability transition pore). Jedná se o nespecifický pór na vnitřní membráně mitochondrií o průměru 2.3 nm, který se otevírá při zvýšené cytoplazmatické koncentraci vápníku, zvláště při současně zvýšené koncentraci anorganického fosfátu, přítomnosti většího množství volných kyslíkových radikálů

a depleci makroergních fosfátů (Di Lisa 2007, Halestrap a Richardson 2015). Otevření MPT póru vede k propustnosti vnitřní mitochondriální membrány pro vodíkové ionty, nízkomolekulární metabolity a ionty vápníku. Důsledkem jejich průniku do nitra mitochondrie je kolaps membránového potenciálu mitochondrie, pokles úrovně oxidativního metabolismu a rozvoj mitochondriálního edému s redukcí krist. Dále dochází k poškození vnější mitochondriální membrány a následně k zániku mitochondrie s fatálními dopady na samotnou buňku (Halestrap a spol. 2004).

Důkazem klíčové role MPT póru při reperfučním poškození jsou především práce ukazující, že blokáda otevření MPT póru významně snižuje velikost infarktového ložiska. Mezi inhibitory MPT póru patří Sanglifehrin A, který se váže na jednu z komponent póru a blokádou jeho otevření snižuje rozsah ischemicko-reperfučního poškození (Clarke a spol. 2002). Dalším známým inhibitorem otevírání MPT póru je Cyklosporin A, který však má, podobně jako Sanglifehrin A řadu nežádoucích účinků. Piot a spol. (2008) pozorovali u pacientů s akutním STEMI pozitivní vliv Cyklosporinu podaného formou intravenózního bolusu těsně před provedením urgentní angioplastiky; ve srovnání s kontrolní skupinou došlo u pacientů po podání Cyklosporinu k menšímu vyplavení kreatinkinázy a rovněž byla menší velikost infarktového ložiska hodnocená pomocí magnetické rezonance srdce 5 dní po infarktu. V současné době je klinicky zkoušeno několik méně toxických analogů Cyklosporinu A (např. N-methyl-4-iso-leucin-CsA), která mají potenciál blokovat otevírání MPT. Zejména v invazivní kardiologii a v kardiokirurgii by byl takový lék nesmírným přínosem (Halestrap 2009).

Výše uvedené paradoxy a úloha MPT póru nejsou jedinými možnými mechanismy podílejícími se na reperfučním poškození myokardu. Piper a spol. (1998) a Karmazyn (1990) upozornili na vliv obnovy pH při reperfuzi. Rychlá normalizace pH je podmíněna činností  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiportu a  $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$  symportu. Zvýšená funkce  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiportu vede k vzestupu cytosolické koncentrace  $\text{Na}^+$ , což vede k rozvoji edému srdeční buňky. Současně dochází k aktivaci  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  antiportu. Důsledkem je další nežádoucí nárůst koncentrace  $\text{Ca}^{2+}$  v buňce s výše popsanými negativními následky. Tlakem zduřelé edematózní tkáně na kapiláry při současném edému endoteliálních buněk se uzavírá mikrocirkulace („no reflow“ fenomén) a pokračuje tak nekontrolovatelná spirála buněčného poškození, která nakonec vede k buněčné smrti (Štejfa 1998).

### 3.1.4 Zánik srdeční buňky

K zániku srdeční buňky dochází trojím způsobem – nekrózou, apoptózou a procesem zvaným autofágie (Clarke a spol. 2007).

Nekróza je energeticky nezávislý proces, charakterizovaný současným poškozením více buněčných organel; dochází při něm k edému buňky včetně jejího jádra, k aktivaci lysozomálních hydrolytických enzymů a k nekontrolovatelnému autolytickému rozkladu buňky. Obsah nekrotické buňky se vylévá do okolního mezibuněčného prostředí, kde může vyvolat zánětlivou reakci a další poškození (Majno a Joris 1995).

Apoptóza představuje buněčnou smrt, charakterizovanou progresivní kondenzací buňky a jádra a řízeným rozkladem organel a makromolekul. Klíčovou úlohu má aktivace proteolytických enzymů kaspáz, která je pod kontrolou genetického programu, aktivovaného poškozením buňky. Od nekrózy se morfologicky liší především tím, že v buňce nedochází k aktivaci lysozomálních enzymů, nekontrolovatelnému autolytickému rozkladu a zánětlivé reakci. Na rozdíl od nekrózy je apoptóza energeticky závislý děj. Apoptóza se uplatňuje hlavně při remodelaci myokardu a při odpovědi na stress (Reeve a spol. 2005). Názor na rozsah a patogenetickou úlohu apoptózy při ischemické chorobě srdeční se vyvíjí. Podle posledních poznatků její exprese závisí hlavně na stupni rozvoje ischemicko-reperfuzního poškození. Zdá se, že iniciace apoptózy je prvotní odpovědí srdeční buňky na ischemii, ale při postupně vznikající depleci ATP v důsledku prolongované ischemie, není proces apoptózy z důvodu nedostatku energie dokončen a buňka podléhá nekróze (Clarke a spol. 2007). Dojde-li k obnově dodávek energie při reperfúzi, vzrůstá podíl apoptózy (Gottlieb a spol. 1994).

Při akutním infarktu myokardu jsou přítomny oba typy buněčné smrti – výskyt apoptózy v centrální zóně infarktového ložiska je omezen prakticky jen na prvních 6 hodin po zástavě perfúze, poté již významně převažuje nekróza. V další fázi je nekrotická oblast infiltrována neutrofily a makrofágy. Uvolnění jejich proteolytických enzymů vede k poškození pojivové tkáně s rizikem vzniku mechanických komplikací. Apoptóza je více zastoupena na periférii infarktového ložiska - v hypoperfundované zóně na rozhraní mezi nekrotickým a viabilním myokardem. Zde dochází k rychlé fagocytóze apoptotických buněk s minimální zánětlivou odpovědí bez destrukce okolní tkáně (Clarke a spol. 2007).

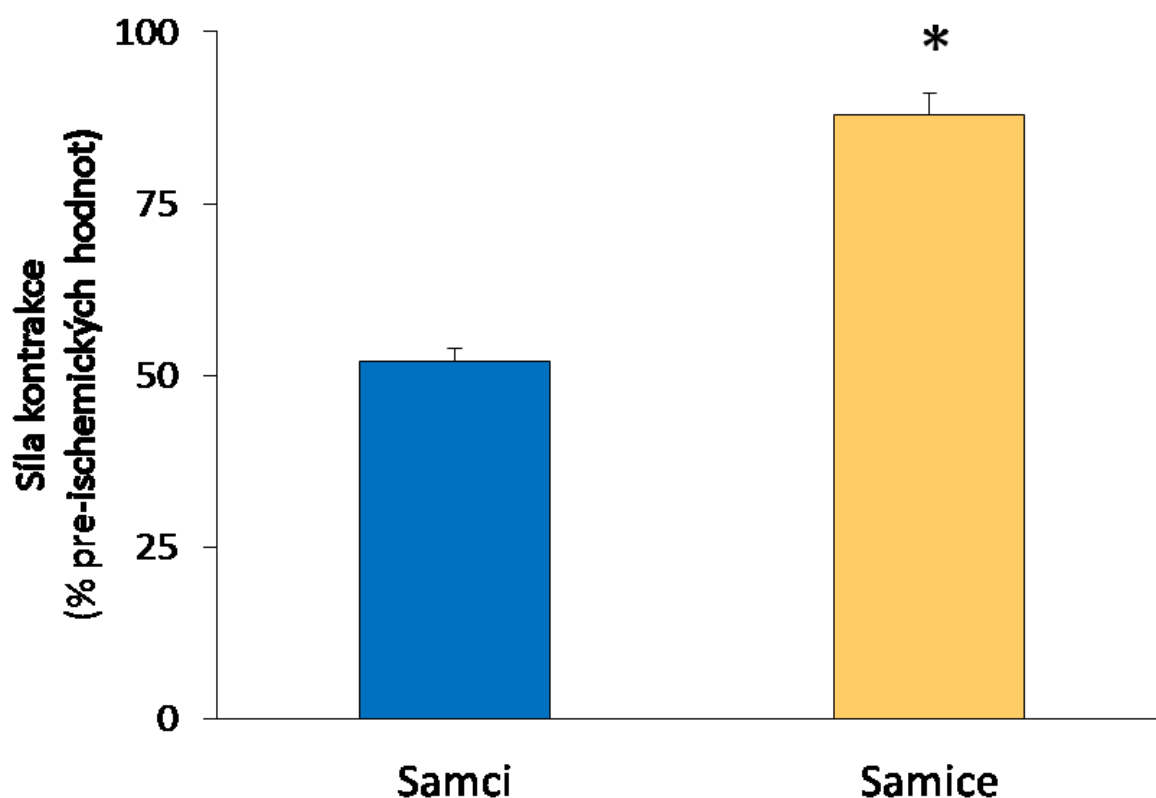
Snaha ovlivnit podíl nekrózy a apoptózy v ischemickém srdečním svalu by mohla v budoucnu změnit léčbu tohoto onemocnění zásahem do mechanismů, brzdících rozvoj apoptózy (Ošťádal a Kolář 1999). Zvláště užitečná by mohla být inhibice apoptózy na počátku

reperfúze. Nadějně se v tomto smyslu jeví preparáty, které brání aktivaci kaspáz (Mocanu a spol. 2000).

Třetím typem buněčné smrti je autofágie. Během autofágie dodávají buňky různé cytoplasmatické složky, včetně celých organel, do lyzozomů, kde jsou odbourávány. Jedná se o recyklační pochod, který nastává hlavně během vývojových změn a v období vážného nedostatku potravy. Pravděpodobně je i přirozenou součástí stárnutí buněk (Klionsky a Emr 2000). Role autofágie při ischemicko-reperfuzním poškození není dosud vysvětlena, zdá se však, že může mít jak pozitivní, tak i negativní vliv (Sai a spol. 2014). Jistou úlohu hraje autofágie při srdečním selhání, zvláště v terminálním stádiu ischemické a dilatační kardiomyopatie (Kostin a spol. 2003), kde je přítomna u 0.3% myocytů (Knaapen a spol. 2001).

### 3.2 Pohlavní odlišnosti – ischemicko-reperfuzní poškození v experimentu

Experimentální studie opakovaně prokázaly přítomnost pohlavních rozdílů v odolnosti srdečního svalu k ischemicko-reperfuznímu poškození. Poprvé byl pohlavní rozdíl v toleranci ischemie popsán před více než 30 lety, kdy Ošťádal a spol. (1984) zjistili, že izolovaná pravá srdeční komora samic laboratorních potkanů je významně odolnější k akutnímu nedostatku kyslíku než pravá komora samců (Graf č. 1).



Graf č. 1 - Síla kontrakce izolované pravé komory dospělých samců a samic laboratorního potkana kmene Wistar po 20 minutové ischemii, vyjádřená jako procento výchozích pre-ischemických hodnot (Ošťádal a spol. 1984)

\* $P < 0.01$ , významný rozdíl samice vs. samci

Další experimenty v této oblasti byly prováděny o mnoho let později s obdobnými výsledky. U různých živočišných druhů (potkan, myš, pes či králík) bylo prokázáno, že zdravý samičí myokard vykazuje významně vyšší odolnost vůči ischemii než zdravý myokard samčí (přehled viz Johnson a spol. 2006). Ukázalo se, že srdce mladých dospělých jedinců samičího pohlaví lépe obnovují kontraktilní funkce a mají menší výskyt arytmií během reperfúze než srdce stejně starých samců (Bae a Zhang 2005, Brown a spol. 2005, Lujan a DiCarlo 2008). Vyšší reparační schopnost samičích srdcí se projevuje nižší hladinou LDH, menší produkcí zánětlivých cytokinů i menším rozsahem infarktu srdečního svalu (Lagranha a spol. 2010). Penna a spol. (2009) v této souvislosti zdůrazňují důležitost trvání délky ischemie: zatímco dlouhá ischemie (30 minut) v jejich studii způsobila menší poškození samičích srdcí ve srovnání se samci, u ischemie kratšího trvání (10 minut) byl výsledek opačný. Pro úplnost je nutno dodat, že existují i dvě práce, kdy pohlavní rozdíl v odolnosti myokardu na ischemicko-reperfúzní poškození nalezen nebyl (Li a Klöner 1995, Przyklenek a spol. 1995). Je třeba říci, že se jedná o ojedinělé výsledky, ovlivněné pravděpodobně použitím odlišné metodiky, například délkou navozené ischemie.

### 3.3 Pohlavní rozdíly v odolnosti hypertrofického srdečního svalu k ischemii

Hypertrofii myokardu definujeme jako zvětšení tloušťky stěny srdeční komory nebo zvětšení masy myokardu nad určitou hranici, danou věkem a tělesnými parametry konkrétního jedince. Hypertrofie představuje jeden z hlavních mechanismů, umožňujících kompenzovat zvýšené pracovní nároky (Crawford a di Marco 2001). Morfologická odpověď na hemodynamickou zátěž závisí na charakteru stimulu. Jde-li o zátěž převážně tlakovou („pressure overload“), vede vzestup napětí ve stěně komory k paralelnímu přibývání sarkomer, ke ztluštění jednotlivých myocytů a ke vzniku koncentrické hypertrofie. S koncentrickou hypertrofií se setkáváme nejčastěji při systémové hypertenzi nebo u aortální stenózy. Jedná-li se především o objemové přetížení („volume overload“), vede diastolické napětí ve stěně komory k přibývání sarkomer v sérii a růstu myocytů v dlouhé ose. Dochází k dilataci komory a vzniku excentrické hypertrofie (Meerson 1961, Sandler a Dodge 1963). Excentrickou hypertrofií nalézáme například u aortální či mitrální insuficience nebo u zkratových vad (nejčastěji na úrovni septa síní či komor při přítomném defektu).

Již více než třicet let je známo, že hypertrofické srdce je méně odolné k nedostatku kyslíku (Schaper a spol. 1976, Belichard a spol. 1988, Snoeckx a spol. 1989). Jednou z příčin tohoto jevu je, že zatímco během vývoje hypertrofie dochází ke zvětšování kardiomyocytů a k nárůstu myokardiální masy, množství kapilár se nemění. Při pokročilé hypertrofii dochází k relativnímu zhoršení dodávky kyslíku a ostatních živin nutných pro metabolismus tkáně; zvětšuje se vzdálenost mezi kapilárou a středem buňky, prodlužuje se tzv. difuzní dráha, transportní cesta kyslíku do mitochondrií je delší (Turek a Rakušan 1981, Batra a Rakušan 1992, Ashruf a spol. 1999). Podle Friehe a del Nida (2003) je právě omezené mikrovaskulární zásobení myokardu spojeno se sníženou odolností k ischemicko-reperfučnímu poškození.

Dosavadní studie odolnosti hypertrofického myokardu k nedostatku kyslíku byly prováděny pouze na zvířatech samčího pohlaví. Položili jsme si otázku, zda lze i u hypertrofických srdcí sledovat pohlavní rozdíly v odolnosti k ischemii.

K pokusům na hypertrofickém srdečním svalu jsme použili nejběžnější z používaných experimentálních modelů esenciální hypertenze - kmen spontánně hypertenzních potkanů (SHR). Tento kmen laboratorního potkana byl vyšlechtěn roku 1963 v japonském Kyotu (Okamoto a Aoki 1963) z populace outbredních potkanů kmene Wistar křížením samců s mírnou hypertenzí a samic s vysokým krevním tlakem; do následujících sourozeneckých křížení byli vybíráni jen potomci s vysokým krevním tlakem (Okamoto 1969). Vznikli tak inbrední jedinci, u nichž se v průběhu vývoje bez výjimky vyvíjí hypertenze; systolický tlak dosahuje až 200 mm Hg. Jako

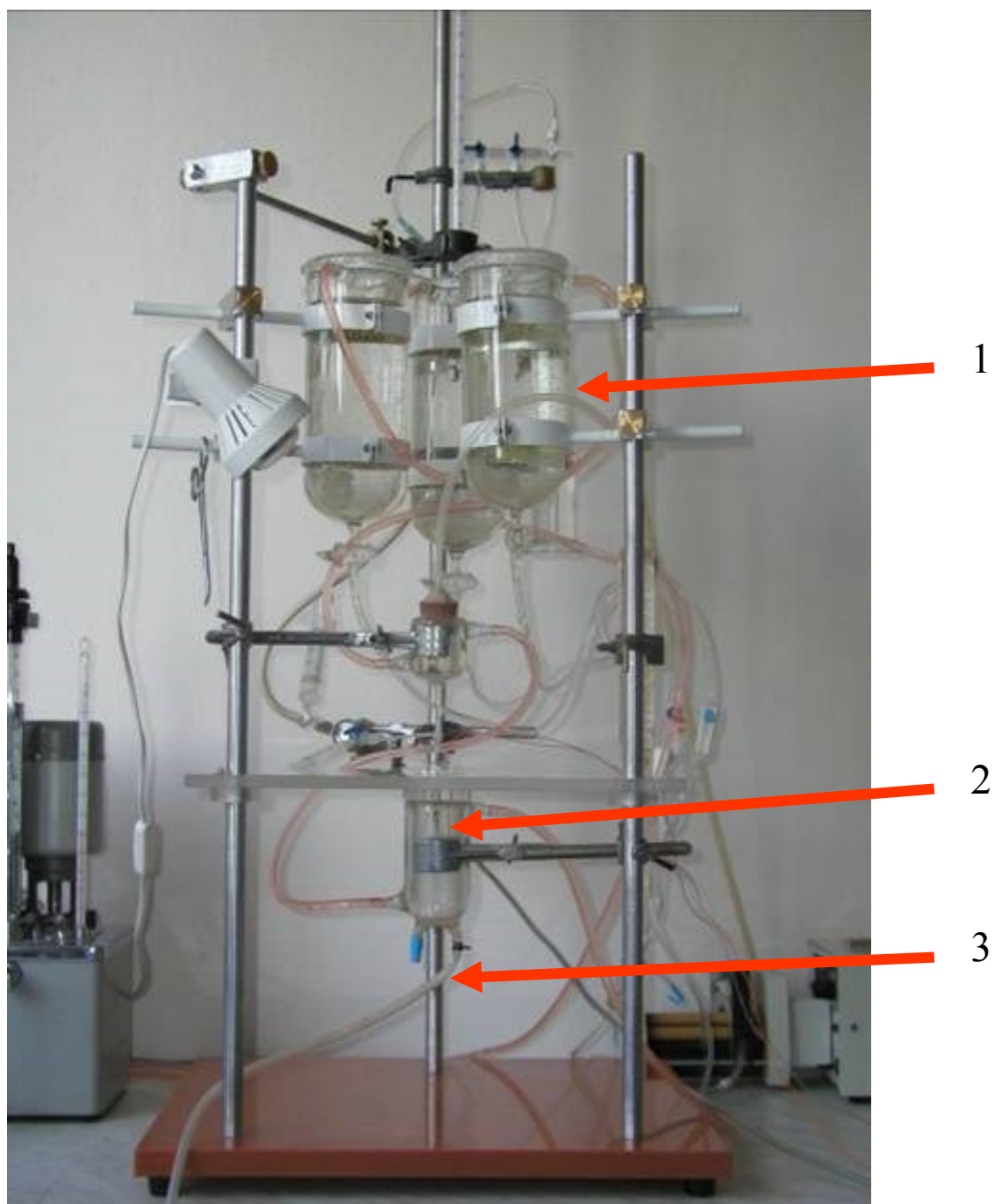


kontrolní se používá inbrední normotenzní kmen Wistar-Kyoto (WKY), vyšlechtěný rovněž z outbrední linie Wistar.

Dospělí potkani SHR a WKY (ve věku 3 měsíců) byli rozděleni do dvou skupin. První skupina byla použita pro invazivní měření krevního tlaku a druhá skupina byla použita pro pokusy *in vitro*. Střední arteriální tlak byl měřen při lehké éterové anestézii přímou punkcí karotické artérie. Po skončení měření byla zvířata usmrcena dekapitací. Zjištěná data středního krevního tlaku u jednotlivých skupin byla poté použita pro nastavení perfuzního tlaku při *in vitro* experimentech.

Po uvedení zvířat do anestezie (pentobarbital 60 mg/kg intraperitoneálně) a jejich fixaci na operační podložce bylo srdce urychleně vyňato z hrudníku, fixováno ligaturou na aortální kanylu a perfundováno oxygenovaným Krebs-Henseleitovým roztokem v perfuzním aparátu podle Langendorffa (obr. 2). Perfúzní tlak byl nastaven u jednotlivých skupin zvířat konstantně na základě průměrné hodnoty středního arteriálního tlaku. Ze srdcí byly odstraněny síně a zbytky extrakardialní tkáně. Poté byla jehlou propíchnuta komora v oblasti apexu, aby se zabránilo hromadění perfuzátu, které do LK odvádějí venae cordis minimae (Thebesii).

Srdce bylo elektricky stimulováno pravoúhlými pulsy s frekvencí 300 za minutu platinovými elektrodami, přiloženými na bazi pravé komory. Délka pulzů byla nastavena na 2 ms a napětí na hodnotu převyšující o 50 % hodnotu prahovou. Kontraktilní funkce srdce byla měřena balónkovou metodou, která spočívá v zavedení neelastického poddajného balónku do levé komory. Tlakové změny v balónku byly registrovány tlakovým snímačem. Balónek byl postupně plněn vodou tak, aby se diastolický tlak na konci stabilizace pohyboval mezi 7,5 - 10 mm Hg. Zesílený tlakový signál byl zaznamenáván a analyzován vlastním počítačovým softwarem. Hodnoty systolického tlaku (SP), diastolického tlaku (DP), vyvinutého tlaku (LVDP) a maximální rychlosti kontrakce  $[(+dP/dt)_{max}]$  byly vyjádřeny jako průměr z deseti srdečních cyklů ve vybraných časových intervalech.



*Obr. 2: Langendorffův perfuzní systém (1 – rezervoár Krebs-Henseleitova roztoku s oxygenačním zařízením, 2 – kanyla pro zavěšení preparátu v temperované baňce, 3 – odvod perfuzátu)*

Po 25 minutách stabilizace byla srdce vystavena 20 minutové globální ischemii a poté 40 minutové reperfúzi. Globální ischemie byla vyvolána uzavřením přítoku perfúzního roztoku do srdce. Po obnovení průtoku byly kontraktální parametry zaznamenávány v 5 minutových intervalech a vyjádřeny jako procento výchozích pre-ischemických hodnot. Důsledek ischemicko-reperfúzního poškození - kontraktální dysfunkci - jsme hodnotili jako průběh a velikost obnovy  $(+dP/dt)_{max}$  v reperfúzi a vyjadřovali jako procento výchozích pre-ischemických hodnot. Po skončení experimentů byla všechna srdce zvážena.

Střední arteriální tlak u SHR samců a samic byl významně vyšší než u WKY potkanů. Nejistili jsme rozdíly v krevním tlaku mezi samci a samicemi u obou skupin (tabulka č. 1).

	Střední arteriální tlak (mm Hg)
Samci WKY	108 ± 4,7
Samci SHR	160 ± 5,9*
Samice WKY	114 ± 3,2
Samice SHR	151 ± 3,4*

Tabulka č. 1: Střední arteriální tlak u kontrolních (WKY) a spontánně hypertenzivních samců a samic (SHR) *in vivo*. (Bešík a spol. 2007)

\*  $P < 0,05$  SHR vs. WKY.

Hmotnost těla a hmotnost srdce u samců SHR a WKY byla významně vyšší než u stejně starých samic. Hmotnost těla a relativní hmotnost srdce byla u SHR samců v porovnání s kontrolními samci WKY zvýšená, zatímco hmotnost těla byla v obou skupinách srovnatelná. Hmotnost těla u SHR samic byla významně nižší než u WKY samic, rozdíl v hmotnosti srdce nedosahoval statistické významnosti, nicméně relativní hmotnost srdce byla signifikantně vyšší u SHR samic (tabulka č. 2).

	Samci WKY	Samci SHR	Samice WKY	Samice SHR
Počet zvířat	8	9	8	10
BW (g)	319 ± 10	312 ± 8	209 ± 3 <sup>×</sup>	189 ± 2 <sup>**×</sup>
HW (g)	0,93 ± 0.04	1,22 ± 0.03 <sup>*</sup>	0,76 ± 0.06 <sup>×</sup>	0,79 ± 0.02 <sup>×</sup>
HW/BW	2.9 ± 0.1	3.9 ± 0.1 <sup>*</sup>	3.6 ± 0.3	4.2 ± 0.1 <sup>**×</sup>

Tabulka č. 2: Hmotnostní parametry dospělých zvířat - BW, hmotnost těla; HW, hmotnost srdce, HW/BW, relativní hmotnost srdce. (Bešík a spol. 2007)

\*  $P < 0,05$  SHR vs. WKY, <sup>×</sup>  $P < 0,05$  samice vs. samci.

Základní kontraktilní parametry před ischemií mezi samci a samicemi se uvnitř skupin SHR a WKY nelišily. U SHR potkanů však byly v porovnání s kontrolní skupinou WKY zvýšené hodnoty systolického tlaku, vyvinutého tlaku a  $(+dP/dt)_{max}$ . Koronární průtok (CF) se u jednotlivých skupin nelišil (tabulka č. 3).

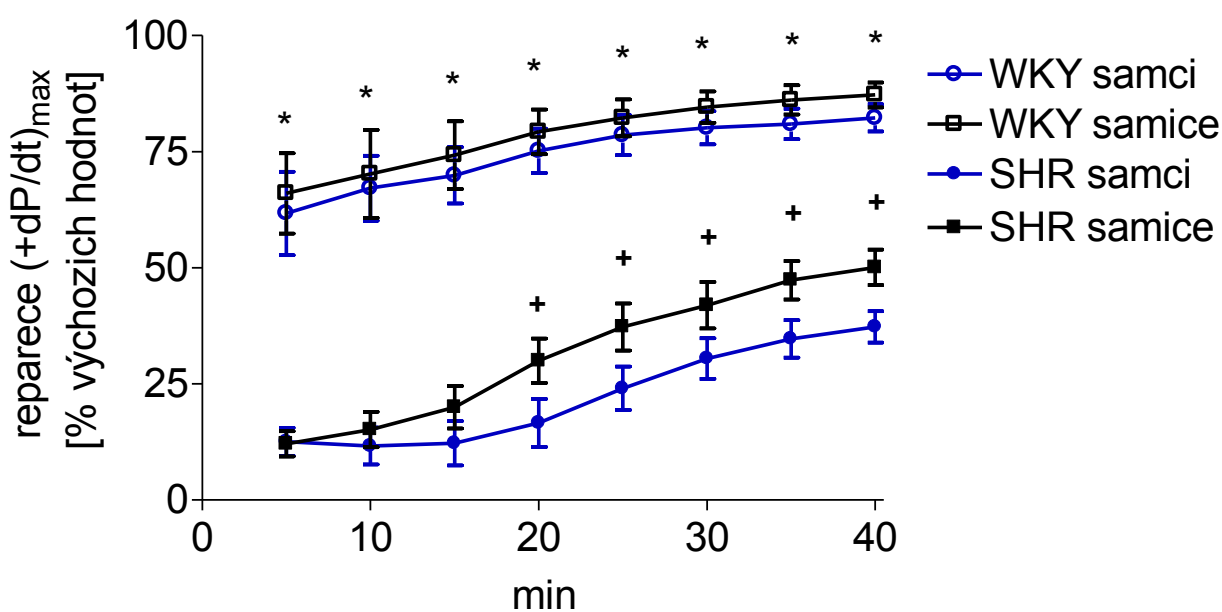
	Samci WKY	Samci SHR	Samice WKY	Samice SHR
Počet zvířat	8	9	8	10
LVSP (mm Hg)	129.7 ± 2.0	163.5 ± 4.3 <sup>*</sup>	127.9 ± 3.3	153.2 ± 4.0 <sup>*</sup>
LVDP (mm Hg)	121.6 ± 2.0	154.7 ± 4.5 <sup>*</sup>	119.2 ± 3.3	144.4 ± 4.1 <sup>*</sup>
$(+dP/dt)_{max}$ (mm Hg/s)	3946 ± 133	5144 ± 252 <sup>*</sup>	3804 ± 155	4544 ± 157 <sup>*</sup>
CF (ml/min/g)	14.0 ± 1.0	15.8 ± 0.7	14.9 ± 0.7	15.9 ± 0.5

Tabulka č. 3: Základní kontraktilní parametry před ischemií - LVSP, systolický tlak; LVDP, vyvinutý tlak; CF, koronární průtok u kontrolních (WKY) a spontánně hypertenzivních samců a samic (SHR). (Bešík a spol. 2007)

\*  $P < 0,05$  SHR vs. WKY.

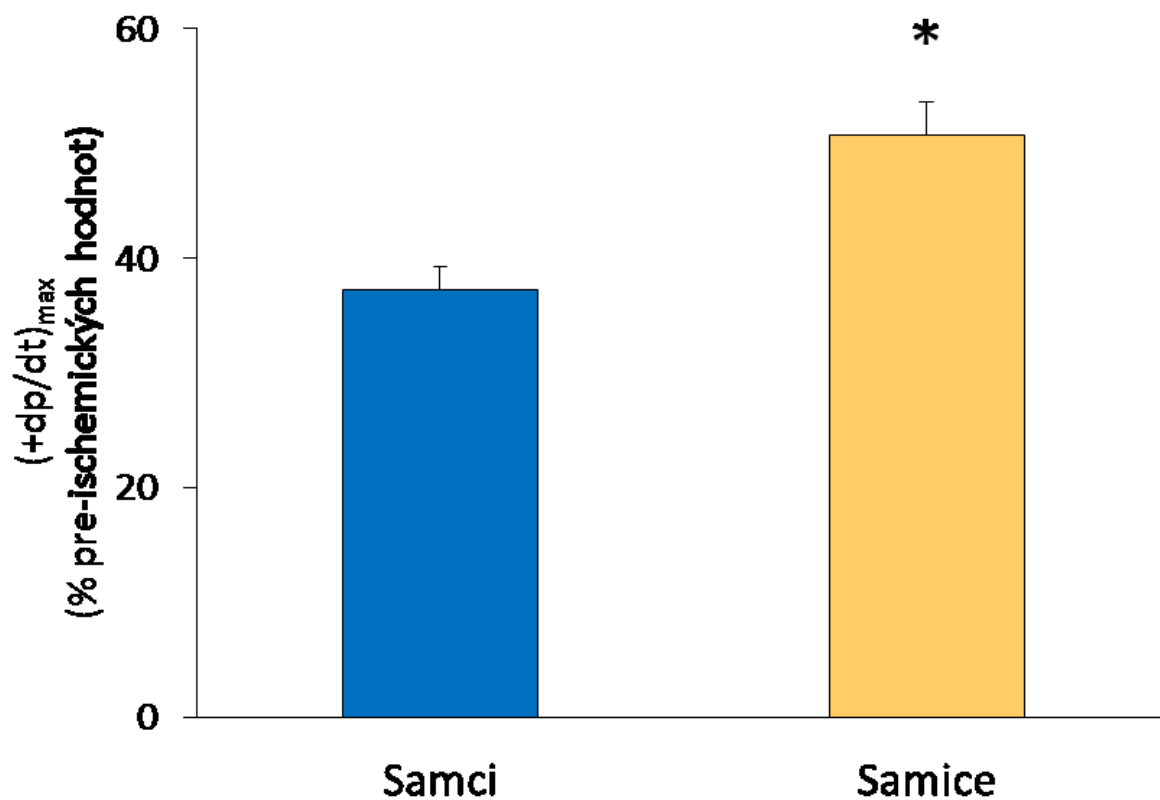
Reparace kontraktility byla u samců a samic WKY významně vyšší než u analogických skupin SHR. Maximální hodnota obnovy  $(+dP/dt)_{max}$  dosáhla u srdcí WKY samic  $88,1 \pm 2,8 \%$  a u samců  $83,8 \pm 3,2 \%$  výchozích hodnot; u srdcí SHR samic  $50,1 \pm 3,8 \%$  a u samců pak pouze na  $37,3 \pm 3,4 \%$  výchozích hodnot.

Nalezli jsme významné pohlavní rozdíly v odolnosti srdečního svalu spontánně hypertenzních potkanů k ischemicko-reperfuznímu poškození: u SHR samic došlo k reparaci  $(+dP/dt)_{max}$  na  $50,1 \pm 3,8 \%$  výchozích hodnot, zatímco u SHR samců pouze na  $37,3 \pm 3,4 \%$  výchozích hodnot. Srdce SHR samic jsou tedy signifikantně odolnější k akutnímu nedostatku kyslíku, než srdce stejně starých SHR samců (grafy č. 2, 3).



Graf č. 2: Průběh reparace  $(+dP/dt)_{max}$  během 40 minut trvající reperfuze po 20 minutách globální ischemie, vyjádřený jako % výchozích preischemických hodnot, u srdcí kontrolních (WKY) a srdcí spontánně hypertenzivních potkanů (SHR). (Bešík a spol. 2007)

\* $P < 0,05$  SHR vs. WKY, + $P < 0,05$  SHR samice vs. SHR samci.



Graf č. 3 - Nejvyšší dosažené hodnoty reparace kontraktility levé komory srdeční (+dP/dt)<sub>max</sub> v reperfúzi po 20 minutové ischémii, vyjádřený jako procento původních pre-ischémických hodnot, u izolovaných srdcí dospělých samců a samic spontánně hypertenzních potkanů (Bešik a spol. 2007)

\* $P < 0.01$ , významný rozdíl samice vs. samci

### 3.4 Vliv perinatální hypoxie na odolnost srdečního svalu k ischemii

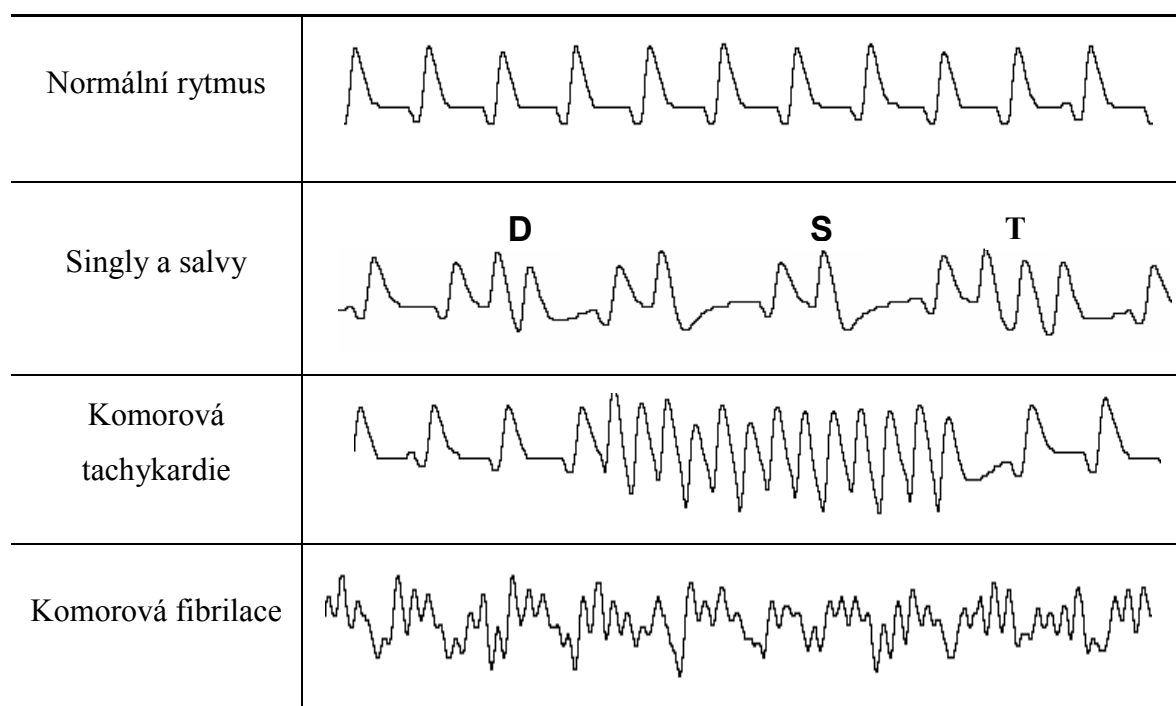
Experimentální, klinické a epidemiologické studie ukazují souvislost mezi intrauterinním vývojem a výskytem chorob srdce a cév v dospělém věku (Barker 1999). Plod může být vystaven řadě rizikových podnětů, z nichž nejzávažnější je pravděpodobně hypoxie. Ta se může vyskytnout u těhotných žen trpících těžkou anémií, závažným plicním onemocněním, některými chorobami srdce či ledvin nebo u žen, které během gravidity žijí ve vysokých nadmořských výškách. Hypoxie se může vyskytnout též při insuficienci placenty nebo při kompresi pupečníku. Li a spol. (2003) zjistili, že perinatální chronická hypoxie u laboratorních potkanů významně zvyšuje citlivost dospělých srdcí k ischemicko-reperfuznímu poškození; vede ke zvětšení infarktového ložiska a horší reparaci kontraktilních funkcí. Dosud však nebyla zkoumána eventuelní přítomnost pohlavních rozdílů v této pozdní odpovědi na perinatální hypoxii.

K pokusu jsme použili samce a samice laboratorního potkana kmene Wistar. Březí samice byly vystaveny intermitentní výškové hypoxii, odpovídající nadmořské výšce 5000 m, v hypobarické komoře 8 hodin denně (model intermitentní hypobarické hypoxie) v posledním trimestru gravidity (7 dní před porodem). Mláďata byla porozena za normoxických podmínek a po porodu byla znovu vystavena, spolu s matkou, stejné výškové hypoxii po dobu 10 dní. Po dobu následujících 3 měsíců byla mláďata chována v normoxických podmínkách. Kontrolní zvířata byla po celý život chována za normoxických podmínek.

Ve věku 90 dní byla zvířata uvedena do celkové anestezie (pentobarbital 60 mg/kg intraperitoneálně) a po fixaci na operační podložce bylo srdce urychleně vyňato z hrudníku, fixováno ligaturou na aortální kanylu a perfundováno Krebs-Henseleitovým roztokem v perfuzním aparátu podle Langendorffa. Po 25 minutách stabilizace byla vyvolána regionální ischemie podvazem ramus interventricularis anterior. Pro hodnocení ischemicko-reperfuzního poškození byl sledován výskyt komorových arytmií během ischemie v trvání 30 minut. Arytmie byly hodnoceny podle Lambethské konvence (Walker a spol. 1988):

- a) jednoduché předčasné komorové stahy (singles),
- b) dvojité a trojitě po sobě jdoucí komorové stahy - tzv. salvy,
- c) komorové tachykardie (VT) - čtyři a více po sobě jdoucích předčasných stahů,
- d) komorové fibrilace (VF).

Příklad záznamů jednotlivých typů arytmií ukazuje obrázek č. 3.



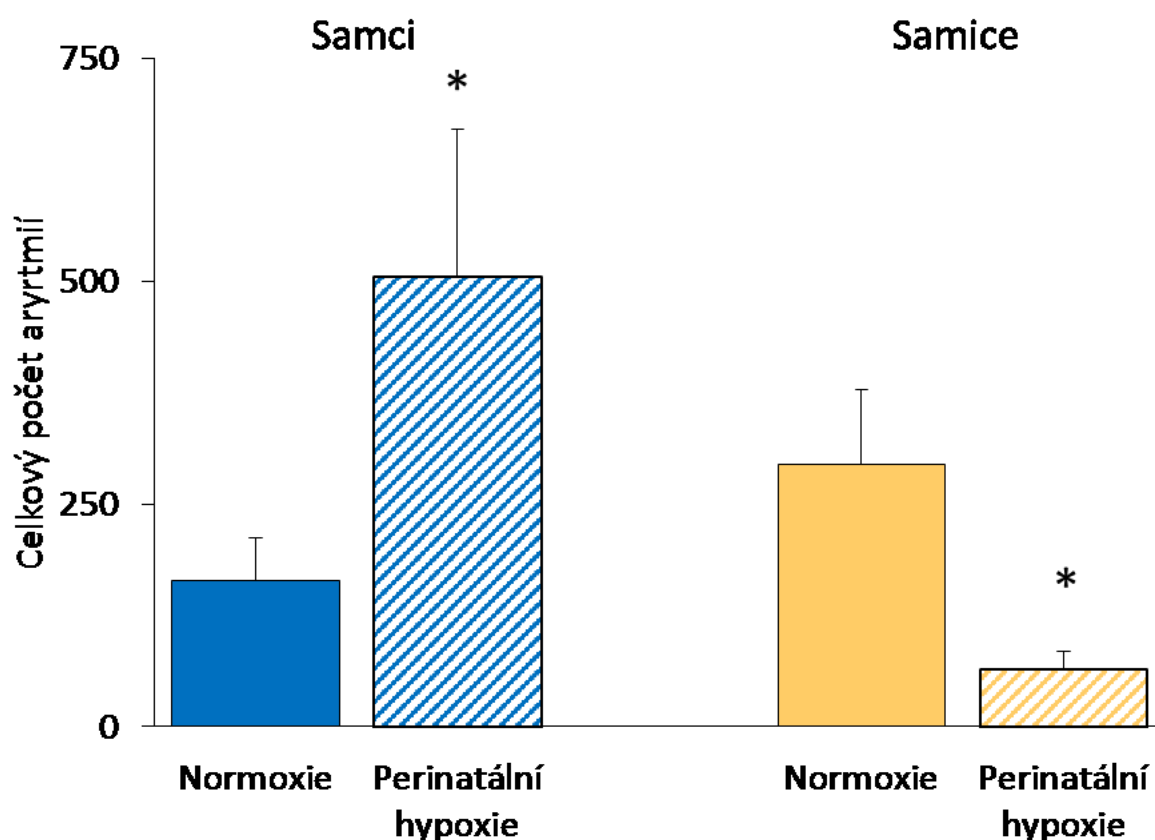
Obr. 3: Typy hodnocených komorových arytmií. S - jednoduchý předčasný komorový stah (single), D - dvojitý a T - trojitý předčasný komorový stah.

Naše pokusy ukázaly, že perinatální hypoxie významně ovlivnila odolnost dospělého myokardu k ischemii. Tento pozdní kardiální důsledek perinatální hypoxie byl u laboratorních potkanů závislý na pohlaví. Zatímco u samců došlo ke zvýšení citlivosti k ischemii charakterizované vyšším výskytem komorových arytmií v porovnání s kontrolní skupinou, u samic byl efekt perinatální hypoxie právě opačný. V porovnání s kontrolní skupinou došlo u samic ke snížení počtu všech sledovaných arytmií (graf č. 4).

Údaje o pozdních důsledcích perinatální hypoxie na odolnost srdečního svalu k akutnímu nedostatku kyslíku jsou zatím nedostatečné, pohlavní rozdíly nebyly až dosud studovány. Je známo, že perinatální hypoxie vede ve fetálním myokardu ke zvýšené expresi genů spojených s oxidativním stresem a metabolismem. Naopak, u mnoha genů spojených s buněčnou signalizací, komunikací a proliferací, dochází vlivem perinatální hypoxie ke snížení exprese (Patterson a Zhang 2010). Důsledkem může být, mimo jiné, i změna odolnosti myokardu



k ischemii. Jak však vysvětlit, že se vliv tohoto perinatálního inzultu projeví i v době dospělosti? Li a spol. (2003) se domnívají, že perinatální hypoxie může vést ke změně programu některých genů *in utero* (např. genů pro HSP70, eNOS,  $\beta$ -adrenergní receptory, G proteiny), což může mít dlouhodobý vliv na srdeční funkci a rovněž i na odolnost dospělého srdce k nedostatku kyslíku. O možných příčinách pohlavních rozdílů v odolnosti srdečního svalu k nedostatku kyslíku bude pojednáno v následující kapitole.



Graf č. 4: Celkový počet arytmí po 30 minutách regionální ischemie (okluze ramus interventricularis anterior) na izolovaném srdci laboratorního potkana kmene Wistar perfundovaného dle Langendorfa u zvířat vystavených perinatální hypoxii a jejich normoxických kontrol. (Netuka a spol. 2006)

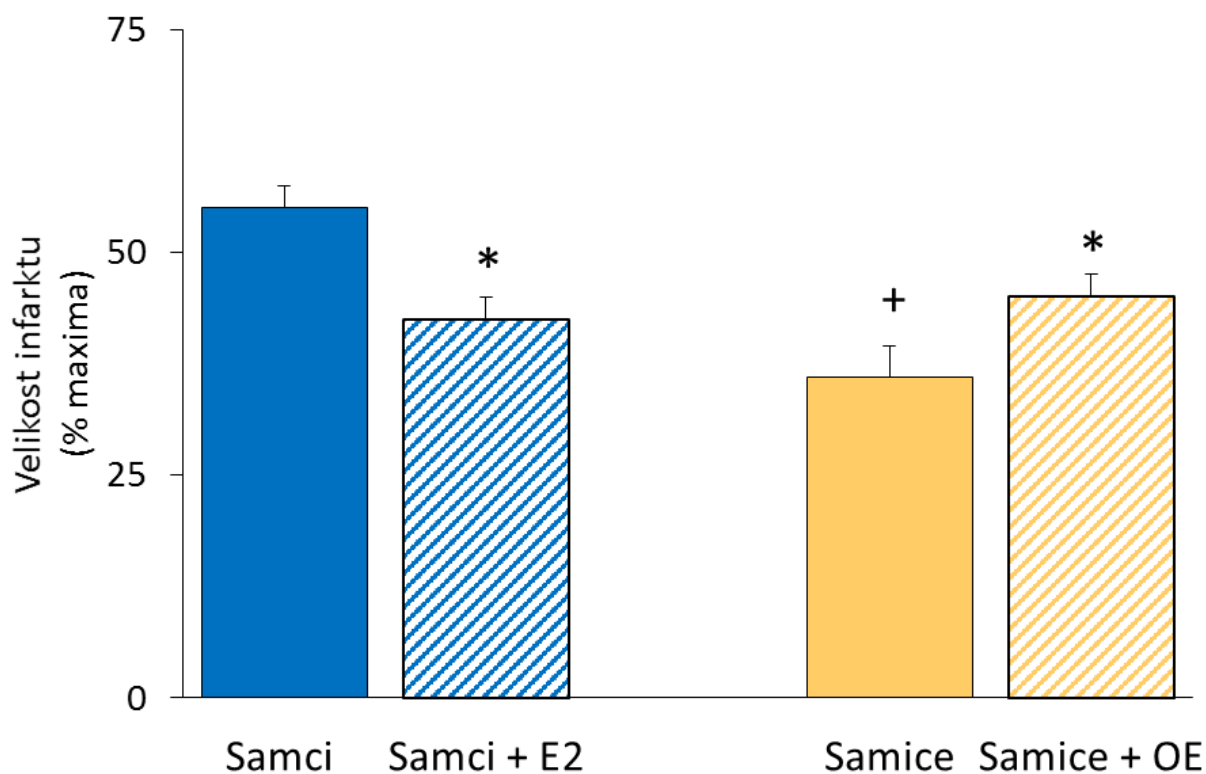
\* $P < 0.01$ , významně odlišné od normoxické skupiny

### 3.5 Možné příčiny pohlavních rozdílů

Otázka, co je příčinou vyšší odolnosti samičího myokardu k ischemii, není dosud vyřešena. Dříve se předpokládalo klíčový vliv pohlavních hormonů. Dnes se ukazuje, že jejich úloha není tak jednoznačná, jak se dříve soudilo. Centrem zájmu jsou spíše strukturální odlišnosti na celulární a molekulární úrovni, v poslední době je zvláštní pozornost věnována funkci MPT póru. Přibývá též prací, které se zabývají hledáním pohlavních odlišností v genové expresi.

I když úloha pohlavních hormonů není dosud zcela vyjasněna, zdá se, že estrogeny přeci jen hrají v pohlavních rozdílech v odolnosti k ischemicko-reperfusnímu poškození významnou roli. Na rozdíl od nepřesvědčivých či dokonce kontroverzních údajů o vlivu estrogenů při hormonální substituční léčbě u žen po menopauze, byl jednoznačný protektivní vliv estrogenů prokázán v experimentálních studiích na zvířatech. Práce Lagranha a spol. (2010) jednoznačně demonstruje, že estrogeny významně přispívají k vyšší odolnosti samičího srdce k ischemii. Odstranění vaječnicků mělo za následek významně větší rozsah infarktu u samic, zatímco podání estrogenů vedlo ke zmenšení rozsahu infarktu u samců (Graf č. 5).

Funkční estrogenové receptory (ER), subtypy  $\alpha$  a  $\beta$ , byly prokázány v samčích i samičích srdečních buňkách řady živočišných druhů od myši až po člověka. Vedle cytoplazmy a jádra jsou oba subtypy ER přítomny i na cytoplazmatické membráně a v mitochondriích (Chen a spol. 2005). Kromě myocytů je v srdci nalézáme i v buňkách hladké svaloviny cév, fibroblastech a endotelu (Arias-Loza a spol. 2008). Afinita ER k vazbě na  $17\beta$ -estradiol je u obou pohlaví stejná, úloha jednotlivých subtypů ( $ER\alpha$ ,  $ER\beta$ ) však dosud zůstává předmětem diskuze (Murphy a Steenbergen 2007).



Graf č. 5 – Velikost infarktu u izolovaných srdcí dospělých samců a samic laboratorního potkana kmene Sprague-Dawley po 30 minutách ischemie a 90 minutové reperfúzi. Části samců (samci + E2) byl podáván estradiol po dobu 2 týdnů, části samic (samice + OE) byla provedena ovariectomie (modifikováno z Lagranha a spol. 2010)

+ $P < 0.01$ , významný rozdíl samice vs. samci

\* $P < 0.01$ , významný efekt intervence (E2, OE)

Vazba estrogenů na ER v srdci vede k ovlivnění genové exprese řady funkčních a strukturálních bílkovin („genomic effect“, např. pohlavní rozdíly v expresi kontraktilních a kolagenních bílkovin). Kromě toho mají estrogeny i přímý vliv na aktivitu signálních kaskád, který se objevuje rychle a nezávisle na syntéze proteinů („non-genomic effect“). Bylo zjištěno, že estrogeny mají vliv na funkci cév, ovlivňují zánětlivou odpověď, citlivost k inzulinu, přežívání kmenových buněk a modifikují rozvoj hypertrofie (Murphy 2011).

Jedním z mechanismů, které by se mohly ve zvýšené odolnosti samičího srdce uplatňovat, je molekula oxidu dusnatého (Di Lisa 2006). Bylo totiž prokázáno, že v samičím myokardu je významně vyšší exprese endoteliální NO syntázy (eNOS); blokátor tohoto enzymu (L-NAME)

pohlavní rozdíly v ischemicko-reperfusionním poškození zrušil (Node a spol. 1997, Wang a spol. 2006). Sun a spol. (2006) navíc prokázali, že vyšší hladina eNOS v samičím srdci má za následek S-nitrosylaci vápníkových kanálů typu L a tím snížení jejich aktivity. Tím se redukuje přetížení buňky vápníkem, jedné z hlavních příčin ischemicko-reperfusionního poškození.

V kapitole o pohlavních rozdílech za fyziologických okolností již bylo zmíněno, že samičí mitochondrie vychytávají vápník v menší míře než mitochondrie samčích a vykazují též schopnost udržovat stálý membránový potenciál i při vyšších koncentracích vápníku (Arielo a spol. 2004). To by mohlo znamenat, že jsou samičí mitochondrie schopny lépe odolávat za podmínek, kdy dochází k masivnímu přetížení vápníkem, tedy hlavně v době, kdy dominuje reperfusionní poškození. V samičích mitochondriích dále dochází k výrazně nižší produkci volných kyslíkových radikálů ve srovnání s mitochondriemi samců (Colom a spol. 2007); to může vést k menšímu negativnímu dopadu na funkci myocytu. Obě tyto skutečnosti se mohou významnou měrou podílet na vyšší odolnosti samičího myokardu k ischemicko-reperfusionnímu poškození.

Lagranha a spol. (2010) zjistili, že příčinou odlišné funkce samičích mitochondrií může být řada post-translačních modifikací mitochondriálních enzymů, podílejících se na oxidativním metabolismu a snížené tvorbě volných kyslíkových radikálů. Pavon a spol. (2012) popsali pozitivní efekt estrogenů na správnou funkci mitochondrií při nestabilitě potenciálu na mitochondriální membráně a při otevírání MPT póru při reperfuzi. Pozorovali, že estrogen ve fyziologické koncentraci způsobuje blokádu MPT póru podobně jako klasický blokátor MPT póru cyklosporin. Na rozdílné chování MPT póru v samčích a samičích mitochondriích se zaměřila i práce Milerové a spol. (2015). Zjistili, že MPT pór samičích mitochondrií má jinou citlivost na zátěž vápníkem než MPT pór mitochondrií samčích: zatímco při nízké koncentraci vápníku nebyl ve funkci MPT póru žádný signifikantní rozdíl, při vysoké koncentraci vápníku byly samičí mitochondrie výrazně odolnější než mitochondrie samčích.

Kromě výše uvedených mechanismů, které se v protekci samičího myokardu pravděpodobně uplatňují, svou roli, zdá se, hrají sarkolemální a mitochondriální  $K_{ATP}$  kanály; jejich blokáda zvětšila rozsah poškození v samičím srdci (Lee a spol. 2000). Molekulární mechanismus pravděpodobně též zahrnuje inhibiční efekt estrogenů na Na/Ca kanál a snížený přísun sodíkových iontů NO-dependentním mechanismem (Imahashi a spol. 2004). Xu a spol. (2006) se zase domnívají, že kardioprotektivní efekt estrogenu je vyvolán inhibicí tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) v ischemickém myokardu. Dochází tak ke zlepšení reparace kontraktlní funkce a k redukci apoptózy a nekrózy. Bae a Zhang (2005) tvrdí, že příčinou zvýšené odolnosti samičího srdce je vyšší aktivita serin/threonin proteinkinázy, která má vliv na snížení tvorby kyslíkových

radikálů a rovněž ovlivňuje apoptózu. Pro možnou protektivní úlohu serin/threonin proteinkinázy svědčí i pozorování Camper-Kirby a spol. (2001), kteří prokázali větší množství této proteinkinázy v jádrech myocytů premenopauzálních žen.

Za pozornost stojí, že převážná většina experimentálních prací si z pohlavních hormonů vybrala pouze jeden – estrogen. Přitom je jasné, že kardiovaskulární systém je ovlivňován nejen celou řadou estrogenních hormonů nebo hormonů s estrogenními účinky, ale současně i hormony androgenními. Stejně jako estrogenní, tak i androgenní hormony jsou přítomny u obou pohlaví, i když v různých koncentracích a poměrech. Endogenní androgeny (dehydroepiandrosteron, androstendion a dehydroepiandrosteron) jsou pomocí enzymů 17-hydroxysteroid dehydrogenázy a aromatázy přeměňovány na estradiol. To znamená, že některé pozitivní efekty testosteronu, které pozorujeme u samců, mohou být způsobeny jeho konverzí na estradiol a jeho metabolity (Ošťádal a Ošťádal 2014). Samotný testosteron aktivuje androgenové receptory, které jsou exprimovány v myocytech; zvyšuje hladinu homocysteinu a endotelinu 1 a stimulací tyroxin hydroxylázy zvyšuje syntézu katecholaminů. Testosteron tedy rovněž zásadním způsobem ovlivňuje kardiovaskulární systém; jeho nižší hladina má kardioprotektivní efekt (Dubey a spol. 2002). Cavašin a spol. (2006) prokázali u myši, že účinky estrogenu a testosteronu na rozvoj srdečního selhání a remodelace levé komory po infarktu je zcela odlišný. Zatímco estrogen (jak endogenní, tak suplementovaný) zabraňuje nežádoucí remodelaci a následnému rozvoji srdečního selhání, testosteron (endogenní i suplementovaný) naopak negativně ovlivňuje hojení srdeční svaloviny, což se v experimentu projevilo vyšším výskytem poinfarktové ruptury stěny levé komory. Současně se vliv testosteronu projevil častějším rozvojem remodelace a srdečního selhání. V této situaci je třeba zmínit zajímavou práci Pira a spol. (2010), kteří zjistili, že u žen, které užívaly hormonální substituční léčbu, hladiny jak estrogenu, tak i testosteronu, významně převyšovaly horní hranici fyziologického rozmezí. Tento fakt může být důležitý hlavně pro další vývoj preparátů pro hormonální substituci u žen po menopauze.

## **4. POHLAVNÍ ROZDÍLY V ODPOVĚDI SRDEČNÍHO SVALU NA NEDOSTATEK KYSLÍKU – KLINICKÁ ČÁST**

### **4.1 Ischemicko-reperfuzní poškození v klinické medicíně**

V klinické praxi se s ischemicko-reperfuzním (I/R) poškozením setkáváme jak ve formě regionálního poškození, tak i ve formě globálního poškození. U regionální formy je I/R poškození ohraničeno nejčastěji na oblast zásobenou některou z hlavních epikardiálních koronárních artérií, zatímco při globální formě je I/R infarktu vystaveno celé srdce.

Nejčastějším případem regionálního I/R poškození je okluze věnčité tepny. Příčinou je zpravidla trombus, vznikající v tepně postižené aterosklerózou, kdy zprvu stabilní aterosklerotický plát praská a na odhaleném smáčivém povrchu okamžitě dochází k masivní agregaci krevních destiček. Nejdříve vzniká tzv. bílý trombus, který podle převahy proagregačních či antiagregačních působků může měnit svůj tvar. V další fázi pak vzniká definitivní, tzv. červený trombus (přehled Ošťádal a Vízek 2005). Rozlišujeme nástěnný trombus, který lumen tepny zužuje a trombus okluzivní, jenž tepnu zcela uzavírá. Klinickým projevem náhle vzniklého kompletního trombotického uzávěru některé z věnčitých tepen je akutní infarkt myokardu s výskytem elevací segmentu ST na EKG, tzv. STEMI (z anglického ST elevation myocardial infarction).

Nedostatek energie ve formě ATP při kompletním uzávěru koronární tepny způsobí výrazný pokles kontraktility již během několika srdečních stahů. To má za následek snížení minutového srdečního výdeje. V důsledku akumulace vápníku v cytosolu dochází ke zhoršení relaxace komory, což vede ke snížení poddajnosti komor a vzestupu end-diastolického tlaku (Danielsen 1991). Vlivem metabolických změn, popsaných podrobně v kapitole věnované ischemickému poškození srdečního svalu, se rychle rozvíjí systolická dysfunkce. Na počátku ischemie se abnormální kontraktilní funkce projevuje dyssynchronií myokardu (poruchou časového průběhu kontrakce mezi nepostíženou a ischemickou oblastí) a hypokinezou (zhoršenou kinetikou) postižené části myokardu. Pokud se ischemií postižená část srdečního svalu vůbec nekontrahuje, jde o akinezu. Nejtěžším stupněm postižení je dyskineza, kdy se postižená oblast nejen nekontrahuje, ale během systoly se vydouvá (Hulín 1998).

Je známo, že buňky srdečního svalu přežívají přibližně 20 minut se schopností úplné reparace při obnovení krevního zásobení a dodávky kyslíku. Po dvaceti minutách od počátku ischemie začínají odumírat první buňky. Nekrotizace začíná v subendokardu, kde je ischemie vždy nejhlubší a postupuje od endokardu k epikardu. Rozvoj ischemické nekrózy může být

rychlý, dokončený během 3 – 6 hodin (rychlý rozvoj se uvádí u zhruba 60% infarktů) nebo pomalý (trvání 6 – 12 hodin, u malého procenta ještě delší). O rychlosti postupu nekrózy rozhodují zejména úplnost přerušení koronární perfuze, přítomnost či nepřítomnost kolaterál a spotřeba kyslíku myokardem (Widimský a spol. 1994).

Léčebná strategie u akutního infarktu myokardu spočívá v co možná nejrychlejší obnově koronární perfúze. Nejčastějším způsobem urgentně provedené revaskularizace tzv. „infarktové tepny“ je ve vyspělých zemích perkutánní koronární angioplastika (též užívaná zkratka PCI, percutaneous coronary intervention). Jedná se o katetrizační metodu, kdy se kanylací stehenní nebo vřetenní tepny pomocí drátěného vodiče zavádí do koronární artérie speciální katetr s vyfouknutým balonkem. Pod kontrolou rentgenu je balonek umístěn do místa zúžení či uzávěru a na několik vteřin nafouknut. Ve většině případů se současně implantuje do postiženého místa koronární stent, který brání opětovnému zúžení či uzavření cévy. Výsledkem této procedury je obnovení průtoku krve do oblasti postižené ischemií. S obnovením perfúze však paradoxně dochází i k již popsanému reperfuznímu poškození. V současné době však zatím v klinické praxi neexistuje efektivní způsob redukce poškození myokardu při reperfuzi (Sluijter a spol. 2014).

S globální formou I/R poškození se setkáváme v kardiochirurgii. U řady srdečních operací, zejména při výkonech na aortální a mitrální chlopni, ale i u většiny operací pro ischemickou chorobu srdeční (aortokoronární bypass) nebo u kombinovaných výkonů, je nezbytná kardioplegická zástava srdce. Provádí se pomocí roztoku s vysokým obsahem draslíku, který se po naložení příčné svorky na vzestupnou aortu instiluje do aortálního kořene nebo přímo do věnčitých tepen operovaného. Současně s navozenou asystolií je po dobu naložení příčné svorky na vzestupnou aortu přerušena koronární perfuze a tím i dodávka kyslíku a energetických substrátů do myokardu. Takto indukovaná globální ischemie má různou délku trvání podle rozsahu prováděné operace. Ukončena je odstraněním příčné svorky z ascendentní aorty, kdy dochází k obnově průtoku krve koronárním řečištěm. I přes moderní techniky ochrany myokardu (hypotermie nebo různé modifikace kardioplegických roztoků) dochází v této fázi srdeční operace ke globálnímu reperfuznímu poškození, které může mít za následek dokonce i rozvoj srdeční dysfunkce (Venogupal a spol. 2009).

S nejdelším trváním globální ischemie se v praxi setkáváme u transplantací srdce, zvláště pak při vzdálených odběrech srdečního štěpu, kdy je trvání ischemie negativně ovlivněno časem transportu dárcovského srdce z místa orgánového odběru do transplantačního centra. K reperfuznímu poškození dochází po implantaci dárcovského srdce do těla příjemce ve chvíli, kdy je odstraněním příčné svorky obnoven průtok krve do transplantovaného srdce. Přestože je

srdeční štěp při odběru důkladně promyt chladným kardioplegickým roztokem, ochlazen ledovou tříští a po celou dobu ischemie je udržována jeho hypotermie, je globální I/R poškození u transplantací srdce zcela zásadním problémem (Fischer a Glass 2003). Z registru ISHLT (International Society for Heart and Lung Transplantation) vyplývá, že prodloužení ischemického času je spojeno s horšími výsledky transplantace srdce (Lund a spol. 2015).

#### **4.1.1 Biochemické markery nekrózy myokardu**

Základem diagnostiky myokardiální nekrózy při akutním infarktu myokardu (AIM) je vyšetření plazmatických koncentrací tzv. kardiospecifických enzymů. Historicky k prvním používaným biochemickým ukazatelům akutního infarktu patří stanovení plazmatické hladiny aspartátaminotransferázy (AST), laktátdehydrogenázy (LDH) a kreatinkinázy (CK). Tato vyšetření se vzhledem k nedostatečné kardiospecifitě dnes při diagnostice AIM nedoporučují. Omezený význam má stanovení plazmatické koncentrace myokardiálního izoenzymu kreatinkinázy (CK-MB), ale i toto vyšetření je doporučeno jen v případech, kdy není dostupné vyšetření s větší diagnostickou hodnotou (Apple a spol. 2007).

Mezi vyšetření s větší kardiospecifitou patří stanovení CK-MB mass, které je nejen specifičtější, ale i citlivější, neboť jím prokazujeme i částečně degradované molekuly enzymu, které již ztratily enzymovou funkci. Zlatým standardem diagnostiky AIM je v současné době vyšetření plazmatických koncentrací srdečních troponinů. Využíváno je stanovení srdečního troponinu I (cTnI) a T (cTnT). Mohou být uvolňovány pouze z myokardu (Janota 2014). V poslední době jsou vedle konvenčních neboli standardních metod vyšetření cTn k dispozici i vysoce senzitivní metody. Mluví se o „high sensitive cardiac TnT“ (hs-cTnT) a „high sensitive“ nebo „ultra sensitive cTnI“ (hs/us-cTnI). Tato vyšetření jsou využitelná jako specifický marker i při minimální nekróze myokardu (Giannitsis a Katus 2009).

Průběh uvolňování cTnT je bifázický. Zvýšení troponinu po začátku akutního infarktu myokardu nastupuje v průběhu 3 hodin a prvního vrcholu je dosaženo za 10–18 hodin po poškození myokardu. Je vyvolán rychlým uvolněním volné cytoplazmatické frakce cTnT. Počáteční vrchol je sledován dalším vrcholem za 3–4 dny, který odpovídá pomalejšímu vyplavování cTnT vázaného v troponin-tropomyosinovém komplexu v nekrotickém ložisku (Yu a spol. 1995). Ve srovnání s cTnT není u cTnI obvykle pozorováno druhé maximum (Giannitsis a Katus 2009).



## 4.2 Pohlavní rozdíly – akutní koronární syndrom

Akutní koronární syndrom (ACS) je označení pro nestabilní formu ischemické choroby srdeční (ICHS). Zahrnuje dvě klinické diagnózy: akutní infarkt myokardu (AIM) a nestabilní anginu pectoris (NAP). Mezi pacienty s akutním koronárním syndromem je převaha mužů. Zastoupení žen mezi pacienty s ACS je udáváno v rozmezí 21 – 41% (Rosamond a spol. 2008). V době prvního výskytu ACS jsou ženy významně starší než muži. Studie zahrnující pacienty s NAP, NSTEMI a STEMI udávají průměrný věk mužů 57-69 let a průměrný věk žen 65-73 let, ve všech publikovaných studiích dosáhl rozdíl ve věku pacientů v závislosti na pohlaví statistické významnosti (Tan a spol. 2015).

Před zavedením trombolýzy do klinické praxe byla 30-denní mortalita infarktu myokardu 16% u mužů a 28% u žen (Kannel a spol. 1979). Trombolytická léčba a její široká dostupnost měla za následek výrazný pokles mortality AIM, rozdíl mezi mortalitou mužů a žen při akutním infarktu myokardu však zůstal i nadále statisticky významný. Studie GUSTO-I prokázala 30-denní mortalitu mužů s AIM léčeným trombolýzou 4.8% a 13.1% u žen (Woodfield a spol. 1997). Vyšší mortalita žen při akutním infarktu byla prokázána i ve studiích prováděných později, po zavedení moderních diagnostických a léčebných strategií, včetně katetrizačních intervencí, podávání účinných antiagregačních léků nebo statinů (Solimene 2010, Lawesson a spol. 2012). Významný rozdíl v hospitalizační mortalitě v neprospěch žen je přítomen jak u pacientů se STEMI, tak u pacientů s NSTEMI (Radovanovic a spol. 2007). Registr GRACE (Global Registry of Acute Coronary Events) uvádí aktuální hospitalizační mortalitu AIM 2.6% u mužů a 4.5% u žen (Dey a spol. 2009). Se zvýšenou mortalitou žen úzce souvisí i vyšší výskyt komplikací při akutním infarktu. V první řadě se jedná o rozvoj kardiogenního šoku. Incidence kardiogenního šoku při AIM je významně vyšší u žen (Akhter a spol. 2009). Velders a spol. (2013) prokázali, že ženské pohlaví má negativní vliv na průběh kardiogenního šoku s nepříznivým dopadem na krátkodobé i dlouhodobé výsledky. Ženy jsou v souvislosti s akutním infarktem více ohroženy srdečním selháním, významnou bradykardií s nutností dočasné kardiostimulace či kardiopulmonální resuscitace a vyšším výskytem respiračního selhání s potřebou umělé plicní ventilace (Tomášek a spol. 2008).

Zdá se, že jednou z hlavních příčin uvedených pohlavních rozdílů je především vyšší věk žen v době prvního výskytu ACS. Kromě vyššího věku je u žen větší výskyt komorbidit, jako je systémová hypertenze, diabetes, fibrilace síní, chronická renální insuficience, onemocnění periferních cév a srdeční selhání (Scirica a spol. 1999, Alfredsson a spol. 2007, Radovanovic a spol. 2007). Dalším důvodem rozdílné mortality u akutního infarktu mohou být i psychosociální

faktory, které ovlivňují chování žen v přednemocniční fázi AIM. Je známo, že ženy mají častěji než muži při podezření na srdeční infarkt tendenci vyčkávat a volat lékařskou pomoc později, čímž se prodlužuje doba mezi začátkem ischemie a terapeutickým zásahem (Goldberg a spol. 2002). K prodloužení může dojít i proto, že diagnostika AIM u žen je komplikována výskytem většího počtu atypických symptomů ve srovnání s muži (McSweeney a spol. 2003). Roli může hrát i častější přítomnost diabetu u žen s AIM, což bývá nezdědka spojeno s ischemií bez doprovodné anginózní bolesti (Barrett-Connor a spol. 1991). Ženy s diabetem mají současně až třikrát vyšší mortalitu při akutním infarktu myokardu oproti mužům s diabetem a nediabetikům (Kannel a Abbott 1987). Kombinace vyššího věku a přidružených onemocnění hraje pravděpodobně klíčovou úlohu, neboť po úpravě dat s ohledem na věk a komorbidity pohlavní rozdíly v mortalitě AIM mizí (Motovska a spol. 2008, Akhter a spol. 2009, Dey a spol. 2009).

### **4.3 Pohlavní rozdíly – kardiovaskulární intervence pro ACS**

Při hledání pohlavních rozdílů výsledků kardiovaskulárních intervencí pro ACS nelze pominout překvapivý fakt, že se liší už samotný diagnostický přístup k ženám a mužům. Halvorsen a spol. (2009) a Poon a spol. (2012) zjistili, že muži s NSTEMI podstupují katetrizační angiografické vyšetření věnčitých tepen častěji než ženy. Tento odlišný postup při diagnostice AIM je vysvětlován zejména vyšším výskytem asymptomatických infarktů u žen (Canto a spol. 2012) a větší variabilitou příznaků ztěžujících diagnostiku AIM u žen (McSweeney a spol. 2003). Významnou roli však může hrát i interpretace zvýšené hladiny troponinu při diagnostice AIM u mužů a žen. Bylo zjištěno, že horní hranice fyziologického rozmezí koncentrace vysoce senzitivního troponinu I (hs-cTnI) a vysoce senzitivního troponinu T (hs-cTnT) je u mužů 1.2 – 2.4 krát vyšší než u žen (Apple a spol. 2012). Shah a spol. (2015) provedli prospektivní analýzu u 1126 pacientů s podezřením na akutní koronární syndrom, u nichž byl k diagnostice IM pomocí hs-cTnI kromě standardního referenčního rozmezí (do 50 ng/L pro obě pohlaví) použito rozdílných mezních hodnot pro ženy (16 ng/L) a muže (34 ng/L). Zatímco u mužů nedošlo k výraznější změně ve smyslu zvýšeného počtu pacientů s diagnózou AIM ve srovnání s použitím standardního testu stejného pro obě pohlaví, u žen byl při použití mezní hodnoty, zohledňující odlišnou fyziologickou koncentraci troponinu, počet diagnostikovaných AIM dvakrát vyšší. Zdá se tedy, že užívání jednotného testu pro detekci hs-cTnI, vede k poddiagnostikování AIM u žen (Tan a spol. 2015).

Ženy s akutním koronárním syndromem jsou léčeny méně invazivně než muži se stejnou diagnózou. Tento fakt se projevuje nižším procentem žen s AIM, které jsou léčeny katetrizačně pomocí PCI. Podobný rozdíl v terapeutickém přístupu je patrný i u chirurgické revaskularizace (Hvelplund a spol. 2012) a byl pozorován u všech forem ACS, tedy u nestabilní anginy pectoris, NSTEMI i STEMI (Tan a spol. 2015).

Důvodem menší invazivity v léčbě akutního infarktu u žen může být aktuální klinický stav; zvláště vyšší věk a přidružená onemocnění mohou být při rozhodovacím procesu důležitým faktorem, proč postupovat spíše konzervativně. Další příčinou snížené nabídky PCI nebo chirurgické revaskularizace může být i anatomie koronárních tepen: u žen se častěji setkáváme s gracilními tepnami, kdy je implantace stentu nemožná nebo technicky obtížná a riziková (Kornowski a spol. 1997). U žen se také častěji než u mužů setkáváme s periferním aterosklerotickým postižením s omezenými možnostmi revaskularizace (Little a Applegate 1998). I v případě chirurgické revaskularizace jsou u žen popisovány omezené možnosti, o čemž svědčí menší počet provedených anastomóz (menší počet revaskularizovaných koronárních tepen) a menší využití arteriálních štěpů ve srovnání s muži (Guru a spol. 2006). Roli však může hrát i jiná osobní preference léčby – ženy o 6% častěji než muži dávají přednost konzervativní léčbě před PCI a o 7% častěji upřednostňují konzervativní postup před chirurgickou revaskularizací (Mumma a spol. 2011).

Glaser a spol. (2002) zjistili, že při provedení katetrizační koronární intervence u akutního koronárního syndromu nejsou mezi muži a ženami rozdíly v profitu z provedené PCI. Existují i práce, které dokumentují větší přínos primární PCI u žen. Mehilli a spol. (2012) zjistili, že ženy léčené reperfuční strategií, dosahují obdobných výsledků jako muži a po korekci na věk je mortalita žen ve srovnání s muži dokonce významně nižší. Zdá se tedy, že pokud by ženy s ACS byly léčeny se stejnou mírou invazivity jako muži, dosáhly by lepších výsledků (Tan a spol. 2015). Tento předpoklad potvrzují recentní výsledky studie EMERALD, do které bylo zařazeno 501 pacientů (393 mužů a 108 žen) se STEMI, u kterých byla provedena urgentně primární PCI s implantací stentu. Přestože ženy byly starší, měly více komorbidit a gracilnější věčité tepny než muži, bylo u nich při stejné době, jež uplynula od začátku příznaků AIM do obnovení koronární perfuze direktní angioplastikou, dosaženo stejných krátkodobých a střednědobých klinických výsledků, jako u mužů. Ženy navíc měly častěji kompletní úpravu ST úseku na EKG za 30 dnů po IM a významně menší rozsah infarktového ložiska než muži (Ng a spol. 2016). S jistou opatrností můžeme konstatovat, že kompletnější reparace EKG a menší rozsah

infarktového ložiska po urgentní katetrizační revaskularizaci svědčí pro vyšší odolnost ženského myokardu k akutnímu nedostatku kyslíku.

#### **4.4 Pohlavní rozdíly – kardiologické operace**

O vlivu pohlaví na výsledky kardiologických operací se diskutuje desítky let. Obecně je ženské pohlaví považováno za nezávislý rizikový faktor časně i dlouhodobé mortality po aortokoronárním bypassu, což potvrzuje celá řada prací (Barbir a spol. 1994, Aldea a spol. 1999, Edwards a spol. 1998, Blankstein a spol. 2005). V některých souborech je nemocniční mortalita žen po chirurgické revaskularizaci myokardu až dvojnásobná oproti mortalitě operovaných mužů (Solimene 2010). Podle Vaccarina a spol. (2002) má ženské pohlaví negativní vliv na mortalitu pouze u mladých pacientů.

Brandrup-Wognsen (1996) zjistili, že ženské pohlaví má sice negativní vliv na časně výsledky po aortokoronární rekonstrukci, nikoliv však na výsledky dlouhodobé. Naproti tomu jiní autoři (Hassan a spol. 2005) prokázali negativní vliv ženského pohlaví pouze na dlouhodobé výsledky po ACB. Obdobné pohlavní rozdíly u dlouhodobých výsledků pak sledovali Norheim a Segadal (2011), ale pouze u pacientů mladších 70 let v době operace.

Že jde o kontroverzní problematiku, dokumentuje například práce Gulbinse a spol. (2010), kteří zjistili, že ženské pohlaví nemá žádný vliv na časnou mortalitu po aortokoronárním bypassu. Podobně Ried a spol. (2011) prokázali, že u pacientů nad 70 let, podstupivších aortokoronární rekonstrukci, výkon na chlopni nebo kombinovaný kardiologický výkon, nemá pohlaví na hospitalizační mortalitu vliv. Některé jiné studie dokonce prokázaly lepší dlouhodobé přežití žen po chirurgické revaskularizaci myokardu ve srovnání s muži (Guru a spol. 2004, Toumpolis a spol. 2006).

Na mnohdy protichůdných výsledcích jednotlivých studií, které hodnotily vliv pohlaví na časnou a dlouhodobou mortalitu po kardiologických výkonech, se mohou podílet menší počty pacientů zahrnutých ve studii, lokální dostupnost urgentní kardiologické péče nebo úroveň jednotlivých chirurgických pracovišť. Výsledky mohou být ovlivněny i rozdílným načasováním operace. Ukazuje se, že ženy jsou k aortokoronární rekonstrukci indikovány méně často a pravděpodobně i s časovým prodlením (Khan a spol. 1997, Blomkalns a spol. 2005). Ženy jsou častěji než muži indikovány k urgentní operaci po komplikované či technicky neúspěšné PCI (Seshadri a spol. 2002), což je zatíženo vyšším operačním rizikem.

Nejrozšířenější evropský model pro hodnocení rizika kardiochirurgických operací (EuroSCORE), který vychází z mezinárodní databáze, obsahující výsledky operací 19030 pacientů, zahrnuje ženské pohlaví mezi proměnné, které mají negativní vliv na predikovanou operační mortalitu (Roques a spol. 1999). Mezi příčiny zvýšené časné mortality žen po ACB patří vyšší věk v době operace, menší tělesný povrch, menší průměr věnčitých tepen a vyšší výskyt přidružených onemocnění, zvláště pak diabetu, systémové hypertenze a srdečního selhání (Solimene 2010).

Významné údaje o dlouhodobém přežívání po revaskularizaci myokardu poskytuje studie BARI (Bypass Angioplasty Revascularisation Investigation), která zahrnovala jak pacienty léčené chirurgicky (skupina ACB), tak i pacienty léčené katetrizačně (skupina PTCA). Celkem bylo k ACB a PTCA randomizováno 1829 pacientů se symptomatickým mnohočetným postižením věnčitých tepen (MVD, multivessel disease). V souboru bylo 489 žen (27%), které byly starší než muži (64.0 vs. 60.5 let), měly vyšší výskyt srdečního selhání (14% vs. 7%), systémové hypertenze (68% vs. 42%), diabetu na léčbě (31% vs. 15%) a vyšší podíl NAP (67% vs. 61%) než muži. Systolická funkce levé komory srdeční a rozsah aterosklerotického postižení věnčitých tepen byly obdobné. Ve skupině ACB nebyl rozdíl v počtu anastomóz mezi muži a ženami, ale u žen byla méně často použita arteria mammaria (72% vs. 85%). Při průměrné době sledování 5.4 roku nebyl rozdíl v mortalitě žen a mužů (12.8% vs. 12.0%), avšak při použití Coxova modelu proporcionálních rizik bylo zjištěno, že ženské pohlaví je nezávislým prediktorem lepšího 5-letého přežití (Jacobs a spol. 1998).

Je prakticky nemožné zjistit, do jaké míry se na výsledku rutinních kardiochirurgických operací konkrétně podílejí pohlavní rozdíly v odpovědi srdečního svalu na nedostatek kyslíku. Kromě uvedených faktorů, které mají vliv na obtížnou interpretaci klinických studií, je třeba mít na paměti, že kardiochirurgické výkony mají různou délku trvání (tedy i různou délku navozené globální ischemie) v závislosti na rozsahu prováděné operace. Existují různé metody protekce srdečního svalu (studená krystaloidní kardioplegie, studená či teplá krevní kardioplegie s navozením či bez navození celkové nebo topické hypotermie) a celá řada proměnných, které mají za následek přílišnou heterogenitu vstupních dat. Systolickou funkcí levé komory počínaje, přes různý rozsah aterosklerotického postižení věnčitých tepen, ovlivňující nejen distribuci podávaného kardioplegického roztoku, ale i rozsah prováděné revaskularizace (v krajním případě nerekonstruovatelné tepny neumožňující ani provedení kompletní revaskularizace) až po případný vliv ischemického preconditioningu, například ve formě opakovaných ischemických atak při nestabilní angině pectoris v období před vlastním kardiochirurgickým výkonem.

#### 4.4.1 Pohlavní rozdíly v pooperačním průběhu u pacientů po náhradě aortální chlopně

Cílem naší práce bylo zjistit, zda lze i v klinické praxi pozorovat vyšší odolnost hypertrofického myokardu ženského (samičího) pohlaví k ischemicko-reperfučnímu poškození. Hledali jsme soubor pacientů, kteří by co možná nejvíce splňovali kritéria podobná parametrům naší experimentální studie vlivu nedostatku kyslíku na odolnost hypertrofického myokardu se zaměřením na pohlavní rozdíly: hormonálně aktivní nemocní s hypertrofií levé komory, bez přidruženého aterosklerotického postižení koronárního řečiště, kteří podstoupili kardiologický výkon s přibližně stejnou dobou trvání (srovnatelnou dobou navozené globální ischemie).

Provedli jsme retrospektivní hodnocení perioperačního a pooperačního průběhu u dospělých, hormonálně aktivních nemocných, operovaných na našem pracovišti od 1.1.1995 do 30.6.2004 pro izolovanou aortální stenozu. Všichni tito pacienti měli elektrokardiografické známky hypertrofie levé komory srdeční a echokardiograficky prokázanou hypertrofickou levou komoru se zachovanou dobrou systolickou funkcí. Neměli žádné jiné přidružené onemocnění či jinou srdeční vadu, která by mohla ovlivnit výsledky operací. Nepřítomnost ICHS byla verifikována koronarografií, prováděnou rutinně u všech pacientů v rámci předoperačního vyšetření před operací srdeční chlopně. U některých pacientů byl výskyt nevýznamné či málo významné přidružené aortální insuficience a u některých byla současně přítomná nevýznamná nebo málo významná mitrální insuficience, která nebyla indikována k chirurgické intervenci (tabulka č. 4).

Ve studovaném období byla na naší klinice provedena izolovaná náhrada aortální chlopně u celkem 40 nemocných, kteří splňovali uvedená kritéria, z toho bylo 15 žen a 25 mužů. Ve skupině žen i mužů došlo vždy u jednoho pacienta k technické chybě při operačním výkonu s následkem trvalého poškození převodního systému s nutností implantace trvalého kardiostimulátoru; tito pacienti byli ze studie vyřazeni. Soubor nemocných, kteří byli předmětem hodnocení, obsahoval celkem 38 pacientů, z toho 14 žen a 24 mužů.

Nejmladšímu pacientovi bylo v době operace 18 let, nejstaršímu 49 let; průměrný věk pacientů byl 41 let (ženy 42,1, muži 40,1), průměrná hodnota ejekční frakce levé komory byla 63,21 % (ženy 63,43 %, muži 63,08 %), všichni pacienti měli před operací sinusový rytmus bez poruchy atrioventrikulárního převodu. Základní předoperačních údaje uvádí tabulka č. 4.

	Ženy	Muži	Hodnota p
Počet pacientů	14	24	
Věk (průměr ± SD)	42,14 ± 8,73	40,42 ± 6,98	0,55
Ejekční frakce LK (průměr ± SD)	63,43 ± 5,72	63,08 ± 6,55	0,87
Gradient na aortální chlopni (- // -)	101,36 ± 26,45	95,38 ± 21,48	0,49
BSA (- // -)	1,78 ± 0,2	1,96 ± 0,15	0,01
Aortální insuficience	5	14	0,31
Mitrální insuficience	3	3	0,98
Systémová hypertenze	2	2	0,99

Tabulka č. 4: Předoperační údaje pacientů operovaných pro aortální stenózu. (Bešík a spol. 2009)

U všech pacientů byla provedena náhrada aortální chlopně cestou podélné střední sternotomie. Mimotělní oběh byl zaveden standardním způsobem kanylací vzestupné aorty a pravé síně. Po naložení příčné svorky byla ochrana myokardu zajištěna podáním jedné dávky 1000 ml krystaloidní kardioplegie St. Thomas přímou kanylací věnčitých tepen. Současně bylo srdce chlazeno ledovou tříští. Všem pacientům byla implantována mechanická dvojlístková chlopeň, s výjimkou jednoho nemocného, u kterého byla z důvodu plánované rozsáhlé břišní operace implantována biologická náhrada.

V perioperačním a pooperačním průběhu jsme sledovali výskyt komplikací, nutnost farmakologické podpory oběhu, potřebu dočasné kardiostimulace nebo jiných podpůrných prostředků. Hodnotili jsme též etiologii a rozsah postižení aortální chlopně, zejména přítomnost kalcifikací, neboť je známo, že přítomnost kalcifikací v anulu aortální chlopně představuje jeden z hlavních rizikových faktorů pro poškození převodního systému při náhradě chlopně (Erdogan a spol. 2006).

Z hodnocení operačních nálezů vyplynulo, že rozsah postižení aortální chlopně byl u žen i mužů obdobný (tabulka č. 5).

	Ženy	Muži	Hodnota p
Etiologie vady:			
- vrozená	11	20	0,99
- porevmatická	3	4	
Kalcifikace:			
- lehké	2	3	0,85
- střední	3	8	
- těžké	7	11	
- velmi těžké	2	2	

*Tabulka č. 5: Etiologie a rozsah postižení aortální chlopně. Kalcifikace lehké a střední postihují pouze cípy chlopně, kalcifikace těžké a velmi těžké kromě postižení chlopněních cípů přecházejí též do anulu aortální chlopně. (Bešik a spol. 2009)*

Základní operační údaje jsou uvedeny v tabulce č. 6. Kromě délky trvání mimotělního oběhu a doby ischemie byl jedním ze sledovaných operačních parametrů index velikosti implantované chlopně náhrady vztažený k tělesnému povrchu operovaného pacienta, sloužící jako orientační ukazatel přiměřené velikosti chlopně protézy. Souhlasíme s všeobecně přijímaným názorem, že implantace nepřiměřeně malé chlopně pouze snižuje předoperační gradient na aortální chlopni, který může zůstat v pásmu středně významné až významné vady (významnou aortální stenozou vyměníme za méně významnou) a tím může být ovlivněn jak bezprostřední, tak dlouhodobý pooperační průběh.



	Ženy	Muži	Hodnota p
Trvání mimotělního oběhu (průměr ± SD)	70,79 ± 18,18	78,88 ± 11,43	0,16
Čas „svorky“ – trvání ischemie (- // -)	54,57 ± 12,05	59,88 ± 10,56	0,20
Index velik. chlopně ku BSA (- // -)	12,49 ± 1,13	12,47 ± 0,88	0,97

Tabulka č. 6: Základní operační údaje – trvání mimotělního oběhu, ischemie, velikost chlopně. (Bešik a spol. 2009)

Během operace ani ve sledovaném pooperačním období nezemřel žádný pacient. Mezi muži a ženami nebyl rozdíl v délce hospitalizace ani výskytu pooperačních komplikací. Potřeba farmakologické podpory oběhu při ukončení MO byla u mužů i žen minimální a nebyl mezi nimi významný rozdíl.

Potřeba dočasné kardiostimulace v perioperačním a časném pooperačním období byla u 2 žen (14,3%) a u 11 mužů (45,8%), tento rozdíl dosáhl statistické významnosti (tabulka č. 7). U žen nebyla v žádném případě důvodem perioperační stimulace převodní porucha (0/14), zatímco ve skupině mužů byla převodní porucha důvodem stimulace šestkrát (6/24). Vždy se jednalo o přechodnou poruchu rytmu ve smyslu atrioventrikulární blokády vyššího stupně (AVB II. či III. st.) v trvání řádově minut až desítek minut. Tento pohlavní rozdíl byl statisticky významný (tabulka č. 7).

Naše klinická studie podle očekávání neprokázala pohlavní rozdíly v úmrtí nemocných, protože současná anesteziologická a chirurgická technika je spojena s důkladnou perioperační ochranou myokardu, takže i pooperační průběh u pacientů podstoupivších náhradu aortální chlopně je bez závažnějších komplikací. Při relativně krátké době ischemie (průměrná doba svorky u obou skupin necelých 60 minut) a současné ochraně myokardu nedošlo k takovému poškození kontraktilní funkce myokardu, které by bylo klinicky významné. Nalezli jsme však pohlavní rozdíl ve výskytu perioperační přechodné atrioventrikulární blokády vyššího stupně; její přítomnost byla u mužů statisticky významně vyšší než u žen. Vzhledem k tomu, že buňky převodního systému jsou velmi citlivé k ischemickému poškození, projevovalo se perioperační poškození na dočasné poruše funkce právě tohoto systému. Toto klinické pozorování ve shodě

s naší experimentální studií naznačuje, že ženské hypertrofické srdce je zřejmě k ischemické zástavě srdeční, ke které při operaci dochází, odolnější než stejně postižené srdce mužské.

	Ženy	Muži	Hodnota p
Počet pacientů	14	24	
Nutnost užití stimulace - -- celkem	2 (14.3%)	11 (45.8%)	0,049 *
--- pro pomalý SR	2 (14.3%)	4 (16.6%)	0,615
--- pro AVB II.	0	1 (4.17%)	0,632
--- pro AVB III.	0	5 (20.8%)	0,085
--- „nestabilní“ rytmus	0	1 (4.17%)	0,632
Perioperační převodní porucha vyššího stupně - AVB II. / AVB III.	0	6 (25%)	0,049 *

*Tabulka č. 7: Nutnost užití perioperační stimulace s rozdělením podle důvodu stimulace a výskyt perioperační přechodné převodní poruchy vyššího stupně (AV blok II. a III. stupně) (Bešík a spol. 2009)*

\*  $P < 0,05$  muži vs. ženy

#### 4.5 Transplantace srdce – riziko I/R poškození

Transplantace srdce patří v rámci kardiochirurgického spektra výkonů mezi operace s nejdelší dobou navozené globální ischemie, a proto jí v rámci klinické části věnujeme zvláštní pozornost. Transplantace srdce je přenos srdce z jednoho těla (dárce) do těla druhého (příjemce). Podle umístění dárcovského srdce (allograftu) v těle příjemce rozlišujeme transplantaci heterotopickou a ortotopickou. Při heterotopické transplantaci je srdce implantováno na jiné místo v těle a původní srdce může být ponecháno *in situ*. Tento typ transplantace se dnes již prakticky nepoužívá. Při ortotopické transplantaci je původní srdce z těla příjemce odstraněno a místo něj je implantováno srdce dárcovské.

Zahájení programu klinické transplantace srdce předcházelo více než šedesát let práce v experimentálních laboratořích v mnoha zemích světa. Hlavními problémy, které bylo potřeba vyřešit, byla operační technika, ochrana orgánu odebraného z těla dárce, transport dárcovského orgánu, imunologické aspekty transplantace, ale i právní a logistické předpoklady tohoto programu (Pirk a Málek 2008).

První zdokumentovanou transplantaci srdce provedli v roce 1905 na universitě v Chicagu Alexis Carrel a Charles Guthrie. Jednalo se o transplantaci heterotopickou; odebrali srdce menšího psa a transplantovali jej na krk psa většího. Orgán obnovil činnost, ale protože transplantace byla prováděna bez antikoagulancií, došlo po zhruba dvou hodinách k trombóze štěpu a pokus byl ukončen (Carrel a Guthrie 1905). První úspěšnou ortotopickou transplantaci srdce (současně s plícemi) uskutečnil v roce 1951 Vladimir Demikhov. Operace proběhla bez přístroje pro mimotělní oběh, pes se z operace zotavil, přijímal potravu a zemřel šestý pooperační den (Konstantinov 1998). Koncem roku 1959 pak Lower a Shumway (1960) provedli u psa první úspěšnou izolovanou ortotopickou transplantaci srdce, po níž se pokusné zvíře zcela uzdravilo. V polovině 60. let minulého století tak byly položeny základy k zahájení klinického programu. Nebyl však vyřešen problém odběru srdečního štěpu, neboť nebyl akceptován koncept mozkové smrti a tak při první transplantaci srdce člověku v roce 1964 nebylo použito lidské srdce. James Hardy odebral srdce od velkého šimpanze, srdeční štěp však za 90 minut po odpojení od mimotělního oběhu selhal a pacient zemřel (Hardy a spol. 1964). První transplantace srdce, při které bylo použito srdce od zemřelého člověka, proběhla 3. prosince 1967 pod vedením Christiana Barnarda v nemocnici Groote Schuur v Kapském Městě v Jihoafrické republice. Příjemce zemřel 18 dní po úspěšném výkonu na oboustrannou pneumonii v důsledku extenzivní imunosuprese (Barnard 1967). Časné výsledky transplantace srdce nebyly ani zdaleka uspokojivé, a protože průměrné přežívání nepřesahovalo 30 dní, byl program transplantace srdce v polovině 70. let na

několik let přerušen. Akceptovatelnou klinickou metodou se transplantace srdce stala až se zavedením Cyklosporinu A do imunosupresivní léčby na počátku 80. let. Dne 31. ledna 1984 provedl v Institutu klinické a experimentální medicíny (IKEM) tým vedený profesory Kočandrlem, Firtem a Fabiánem první úspěšnou transplantaci srdce v tehdejší Československu. IKEM se tak stal vůbec prvním centrem v rámci bývalého východního bloku, kde byl program transplantace srdce úspěšně zaveden (Pirk a Málek 2008). Do doby vzniku této práce bylo v IKEM provedeno již více než 1000 srdečních transplantací.

Transplantaci srdce indikujeme u pacientů v terminální fázi srdečního selhání, u kterých byly vyčerpány všechny ostatní možnosti interní a chirurgické léčby a nelze je léčit jiným způsobem. Terminální fáze srdečního selhání je obvykle charakterizována výrazným omezením kvality života nemocného (NYHA III-IV), velmi pokročilým stupněm dysfunkce levé komory srdeční a je spojena se špatnou životní prognózou nemocného (Málek 1993). Uvádí se, že z prognostického hlediska je transplantace indikována tehdy, je-li pravděpodobnost dvouletého přežití při konzervativní léčbě pod 50%. Bylo popsáno téměř 150 faktorů, které mohou přispět k odhadu prognózy. Patří mezi ně faktory klinické (zejména snížená tolerance zátěže, úbytek na váze a jiné), faktory hemodynamické (nízká ejekční frakce LK, dilatace levé komory se současně přítomnou významnou mitrální regurgitací či nízký srdeční výdej), ale i faktory elektrofyzilogické a biochemické (Pirk a Málek 2008). Zvláště užitečným prognostickým ukazatelem srdečního selhání, zejména při sledování dynamiky markeru, je stanovení sérové hladiny natriuretických peptidů BNP nebo NT-proBNP (Rothenburger a spol. 2004, Doust a spol. 2005). Z hlediska diagnózy indikujeme k transplantaci srdce nejčastěji nemocné s dilatační kardiomyopatií a s ischemickou chorobou srdeční (Pirk a Málek 2008).

Dárce srdce je osoba, která zemřela nejčastěji v důsledku spontánního mozkového krvácení či úrazu hlavy, která nemá v anamnéze kardiovaskulární onemocnění, má normální elektrokardiogram a echokardiografický nále. Důležitá je biologická shoda dárce a příjemce (krevní skupina, panel základních protilátek), dárce a příjemce musí mít přibližně stejnou hmotnost a podobnou tělesnou konstituci. Jistě není bez zajímavosti fakt, že shoda pohlaví dárce a příjemce není (alespoň dosud) vyžadována (Pirk a Málek 2008).

Základním předpokladem odběru srdce je prokázaná smrt mozku, tedy úplný a trvalý zánik funkce mozkového kmene (Černý a spol. 1998). V této souvislosti je třeba uvést, že mozková smrt je provázena řadou patofyzilogických dějů, které mohou způsobit závažné poškození srdečního štěpu. Dominantním problémem je tzv. „katecholaminová bouře“, která je provázena prudkým vzestupem krevního tlaku při generalizované vazokonstrikci. Příčinou je

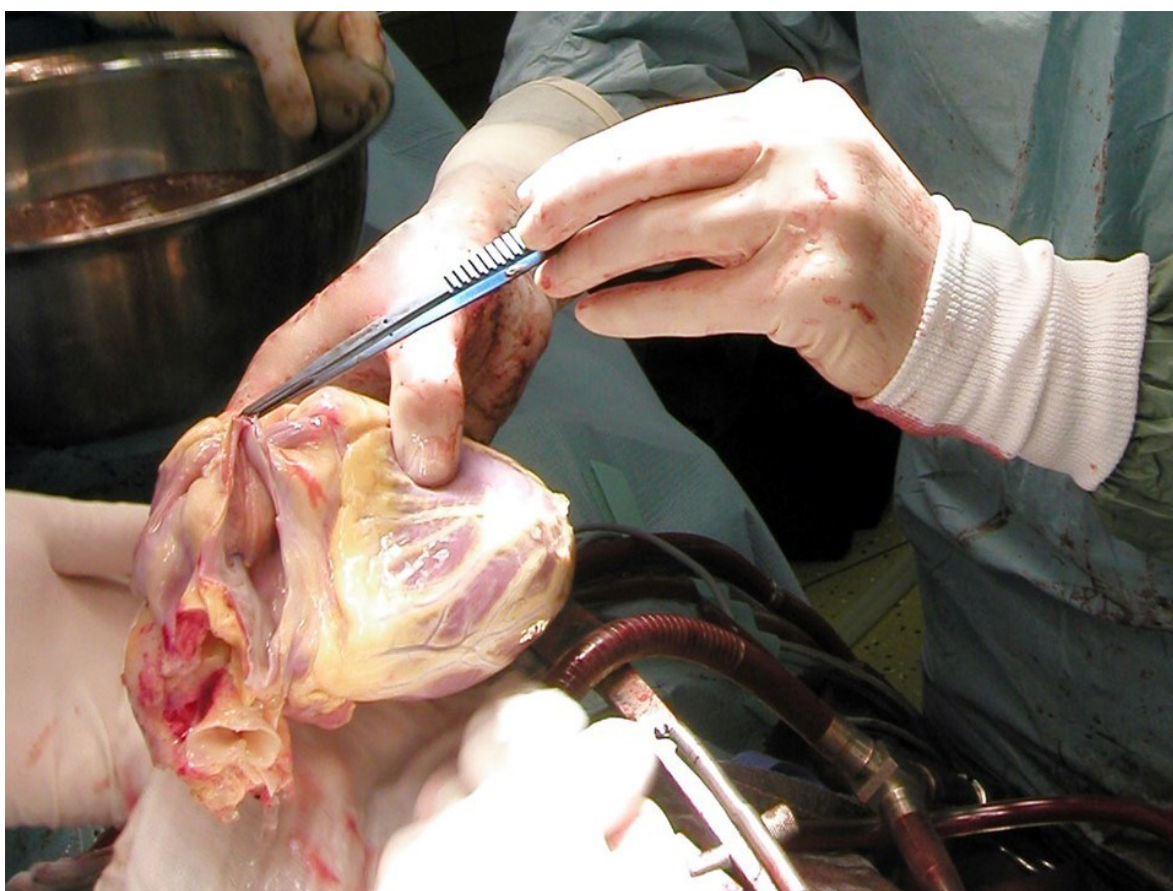
postupně progredující nitrolební hypertenze, kdy dochází ke kompresi cerebrálních arterií okolní tkáně s rozvojem mozkové ischemie, která má za následek aktivaci sympatiku s masivním vyplavením katecholaminů. Tento mechanismus, v literatuře popisovaný jako Cushingův reflex, zajišťuje za normálních okolností zvýšení perfuze mozkové tkáně při jejím omezení. Zvláště silně je tento reflexní děj vyjádřen při herniaci mozkového kmene do foramen magnum. Takto navozená těžká vazokonstrikce vede k ischemii periferních tkání s rozvojem metabolické acidózy a narušena je mimo jiné i koronární cirkulace. Výsledkem je různý stupeň subendokardiální ischemie až rozvoj akutního infarktu myokardu. K podobným změnám dochází i na úrovni plicní cirkulace. Prudké zvýšení plicní rezistence vede k akutnímu přetížení pravé komory, její dilataci a dysfunkci (Ranasinghe a Bonser 2011). S postupující ischemií míchy dochází k progresivní vasoparalýze a poklesu periferní cévní rezistence. V důsledku mozkové smrti dále dochází ke vzniku endokrinní dysfunkce, manifestující se jako diabetes insipidus. Výpadek sekrece vasopresinu vede k prohloubení hypotenze jednak přímo, neboť vasopresin je silný vazokonstriktor, zároveň dochází v důsledku jeho nedostatku ke zvýšení diurézy. Diuréza je někdy tak enormní, že dochází k rozvoji hypovolémie, která se významnou měrou podílí na oběhové nestabilitě (Smith 2004). Základním pravidlem péče o dárce srdce je udržení hemodynamické stability, vnitřního prostředí (zvláště zabránění vzniku hypokalémie) a korekce hypovolémie (D'Ancona a spol. 2010). Kromě podávání katecholaminů a infuzních roztoků je v některých zemích (např. USA, Velká Británie) součástí protokolu péče o dárce i podávání vasopresinu (Venkateswaran a spol. 2009).

Vlastní odběr srdce probíhá většinou jako součást tzv. multiorgánového odběru, kdy se nejprve provádí preparace břišních orgánů. Teprve poté se otvírá perikard. Po podání Heparinu se do vzestupné aorty zavede kanyla, kterou je po naložení příčné svorky na aortu podán kardioplegický roztok, jenž přivodí srdeční zástavu. Současně je srdce chlazeno ledovou tříští.

Hypotermie štěpu je velice důležitá; uvádí se, že při teplotě myokardu 3-5 stupňů Celsia dosahuje metabolická aktivita pouze 1/10 aktivity při normální tělesné teplotě (Pirk a Málek 2008). Po ukončení kardioplegie je přerušena dolní dutá žíla, odstřiženy všechny čtyři plicní žíly, přerušena horní dutá žíla a nakonec přestřižena aorta a plicnice. Poté je srdce opatrně vyňato z hrudi dárce a po kontrole anatomických struktur je uloženo do transportního boxu. Odběrový tým musí svou činnost dokonale koordinovat s transplantačním týmem, protože tolerance srdce k ischemii je nejnižší ze všech odebíraných orgánů. Maximálně přípustná doba od přerušení cirkulace koronárním řečištěm v těle dárce do obnovení cirkulace po implantaci srdce v těle příjemce (tzv. doba studené ischemie) je kolem 5 hodin (Dominik 1998).

Snaha o minimalizaci doby ischémie je základním předpokladem úspěchu srdeční transplantace, neboť je známo, že čím kratší je doba studené ischémie, tím lepší je dlouhodobé přežívání po transplantaci srdce (Kilic a spol. 2012). Již dlouho se ví, že ischémie delší než 4 hodiny je spojena s výrazně horšími výsledky po transplantaci (Del Rizzo a spol. 1999). Z největšího mezinárodního transplantačního registru ISHLT (International Society for Heart and Lung Transplantation) vyplývá, že již ischémie štěpu delší než 200 minut představuje nezávislý rizikový faktor pro jednoroční mortalitu a má významný negativní vliv na 5-leté a dokonce i na 15-leté přežití po transplantaci srdce (Stehlik 2012). V naší recentní práci, která analyzovala výsledky pacientů transplantovaných pro vrozenou srdeční vadu na klinice kardiologické a transplantační chirurgie IKEM, jsme identifikovali dobu studené ischémie delší 4 hodin jako silný prediktor perioperační i jednoroční mortality (Bešík a spol. 2016).

Z hlediska transportu orgánů rozlišujeme místní odběr, který probíhá v transplantačním centru, obvykle na operačním sále v rámci jednoho operačního traktu nemocnice a odběr vzdálený, prováděný v jiné nemocnici, kdy je dárcovský orgán nutno do transplantačního centra dopravit. Dobu transportu je třeba při plánování transplantace zahrnout do předpokládané doby studené ischémie. Za účelem minimalizace doby studené ischémie jsme na naší klinice před několika lety provedli zásadní změnu taktiky orgánových odběrů. U pacientů po předchozích srdečních operacích, zvláště pak u pacientů s korigovanou vrozenou srdeční vadou nebo u pacientů s implantovanou mechanickou srdeční podporou, provádíme místní odběr. Zatímco v roce 2012 byl proveden lokální odběr u 15 ze 42 provedených transplantací (35%), v roce 2013 již lokální odběry představovaly 60% orgánových odběrů (30 místních odběrů ze 47 srdečních transplantací) a v roce 2014 dokonce 78% (ze 49 odběrů bylo 38 lokálních). Tato strategie se významně odrazila v redukci doby studené ischémie – v roce 2012 byla průměrná doba ischémie dárcovského štěpu 155 minut (medián 127 minut), v roce 2013 pak 138 minut (medián 112 minut) a konečně v roce 2014 byla průměrná doba ischémie již jen 118 minut (medián 98 minut). O klíčovém vlivu lokálně prováděného odběru na dobu studené ischémie dárcovského štěpu svědčí i naše analýza transplantací prováděných pro vrozenou srdeční vadu. V našem souboru, z hlediska techniky a časové náročnosti zvláště komplikovaných pacientů, byla průměrná doba studené ischémie 154 minut (medián 140 minut). Zatímco u vzdálených odběrů byla průměrná doba ischémie 187 minut (medián 180 minut), u lokálních odběrů pouze 105 minut (medián 99 min),  $p < 0.001$  (Bešík a spol. 2016).



*Obr. 4: Úprava srdečního štěpu při transplantaci (archiv kliniky kardiologie IKEM)*

Mezi další faktory, které mají významný negativní vliv na jednorocní mortalitu po transplantaci srdce, patří vyšší věk dárce a významný nepoměr hmotnosti dárce a příjemce. Z faktorů, týkajících se pouze příjemce, pak porucha funkce ledvin s elevací hodnot sérového kreatininu u příjemce, zvláště pokud je nutná dialyzační léčba, vysoká plicní rezistence, anamnéza podání krevních transfuzí, předchozí transplantace, implantace mechanické srdeční podpory a transplantace pro vrozenou srdeční vadu (Stehlik 2012).

Hlavními příčinami časně mortality jsou dle registru ISHLT primární selhání štěpu, rejekce, infekce a multiorgánové selhání. V delším časovém odstupu od transplantace jsou dominujícími příčinami úmrtí malignity, koronární nemoc štěpu a selhání ledvin (Lund a spol. 2015).

Faktory, ovlivňující negativně dlouhodobé přežívání po transplantaci srdce, zahrnují kromě delšího trvání studené ischemie dárcovského štěpu, vyššího věku dárce a jiných faktorů,

uvedených mezi prediktory jednorocní mortality i vyšší věk příjemce, přítomnost diabetu u příjemce nebo vysoké hodnoty PRA (panel reaktivních protilátek) před transplantací. Horší výsledky dlouhodobého přežívání ve srovnání s ostatními pacienty mají nemocní transplantovaní pro ischemickou chorobu srdeční a znevýhodněni dle statistik jsou pacienti, kteří byli transplantovaní v centrech s menšími počty provedených výkonů, což pravděpodobně souvisí s celkovou erudiicí a zkušenostmi pracoviště s dlouhodobou péčí o transplantované pacienty (Stehlik a spol. 2012).

#### **4.5.1 Transplantace srdce – pohlavní rozdíly**

Existují studie, které mezi faktory negativně ovlivňující přežívání po transplantaci srdce, zahrnují i ženské pohlaví dárce. Jedná se vesměs o zkušenosti v rámci jednoho transplantačního centra (Bryan a spol. 1996, McCarthy a spol. 1998, Tsai a spol. 2002, Solomon a spol. 2004), k dispozici je však i multicentrická studie, vycházející ze statistik registru ISHLT. Ženské pohlaví dárce bylo identifikováno jako rizikový faktor jednorocní mortality po transplantaci srdce u dospělých pacientů, kteří podstoupili transplantaci v letech 1995 až 1998, nikoliv však u pacientů, kteří byli transplantovaní v letech 1999 až 2002 (Taylor a spol. 2004). Tato nekonzistence je vysvětlována nejednotnou kolekcí dat v různých obdobích a z různých center, která mají odlišné strategie a zkušenosti (Al-Khalidi a spol. 2006).

Z hlediska krátkodobého i dlouhodobého přežívání po transplantaci srdce je velmi pravděpodobně hlavním nepříznivým faktorem odlišné pohlaví dárce a příjemce (Khush a spol. 2012). Byla publikována celá řada prací, která demonstrovala horší výsledky u mužů, kterým bylo při transplantaci implantováno ženské srdce. Shodují se jak zkušenosti jednotlivých transplantačních center (Prendergast a spol. 1998, Al-Khalidi a spol. 2006, Kittleson a spol. 2011), tak i výsledky rozsáhlých multicentrických studií. Dle údajů z registru ISHLT z roku 2012 mají muži, kterým bylo transplantováno ženské srdce, horší 5-leté přežití než muži, kterým bylo implantováno srdce mužské. Jestliže u 5-letého přežití je tento fakt hraničně signifikantní, pak u 15-letého přežití je již statisticky velmi významný (Stehlik a spol. 2012). Analýza, vycházející ze stejného registru z roku 2015, pak zařazuje situaci, kdy je dárce srdce žena a příjemcem muž, dokonce mezi rizikové faktory již pro jednorocní mortalitu (Lund a spol. 2015). Analýzou dat z databáze United Network for Organ Sharing (UNOS) bylo zjištěno, že nejlepšího 5-letého přežívání dosahuje taková kombinace pohlaví dárce a příjemce, kdy dárce i příjemcem je muž



a nejhorší 5-leté přežívání má kombinace, kdy dárce je žena a příjemcem muž (Weiss a spol. 2009).

Zajímavé je zjištění, že z hlediska dlouhodobých výsledků po transplantaci je nepříznivá i opačná kombinace, tedy pokud je příjemcem žena a dárce muž. K tomuto zjištění došli v rámci single-center studie, která zahrnovala 857 transplantovaných pacientů, Kittleson a spol. (2011). Ženy s graviditou v anamnéze mají dle údajů z registru ISHLT horší 5-leté přežívání, pokud jim bylo transplantováno mužské srdce, než muži, kterým bylo transplantováno srdce od mužského dárce (Stehlik a spol. 2012).

Detailní analýzu dat z registru ISHLT se zaměřením na pohlaví dárce a příjemce provedli Khush a spol. (2012). Studie zahrnovala celkem 60584 dospělých pacientů, kterým byla v letech 1990 – 2008 provedena ortotopická transplantace srdce. Ukázalo se, že statisticky významně horších výsledků dosahují skupiny pacientů, kterým bylo transplantováno srdce od dárce odlišného pohlaví (donor recipient sex mismatch). Potvrdilo se, že zvláště nepříznivá kombinace je, pokud je příjemcem muž a dárce žena, ale horších výsledků dosahuje i skupina, kde příjemcem je žena a dárce muž. Tento rozdíl zůstal zachován i po vyloučení pacientů, kteří zemřeli z nekardiálních příčin (infekční onemocnění, malignity a jiné). Hlavním důvodem odlišných výsledků je rozdílný výskyt selhání štěpu. Incidence selhání štěpu po transplantaci srdce, včetně primárního selhání štěpu v časném pooperačním období, je u skupin s odlišným pohlavím dárce a příjemce významně vyšší než u skupin bez této odlišnosti. Autoři na základě výsledků studie doporučují, aby kromě aktuálně platných kritérií pro dárce srdce byla, pokud to situace umožňuje, vyžadována i shoda pohlaví dárce a příjemce.

Prendergast a spol. (1998) se domnívají, že příčinou horších výsledků po transplantaci, kdy se liší pohlaví dárce a příjemce, může být vyšší výskyt rejekčních epizod, které v rámci své single-center studie u obou skupin s pohlavní odlišností pozorovali. Naproti tomu, Khush a spol. (2012) významné rozdíly ve výskytu akutní rejekce, ani ve výskytu koronární nemoci štěpu nenalezli. Zjistili však, že mužští příjemci byli starší, trpěli častěji hypertenzí, diabetem, poruchou funkce ledvin a byli častěji transplantováni z důvodu ICHS. Zároveň byli před vlastní transplantací častěji hospitalizováni s nutností farmakologické podpory oběhu. S výjimkou hypertenze se jedná o rizikové faktory pro krátkodobé i dlouhodobé přežívání po transplantaci, nevysvětluje to však přítomnost horších výsledků po implantaci ženského srdce.

Jedním z důvodů by však mohla být nižší hmotnost ženského srdce. Jak bylo již uvedeno, relativní hmotnost srdce je u žen významně nižší než u mužů (Ošťádal a spol. 2009). Navíc, i relativní hmotnost levé komory je nižší u žen ve srovnání s muži a to i po korekci na věk a hodnoty

krevního tlaku (Hinderliter a spol. 1992). Tento fakt může hrát, i při respektování hmotnostní a konstituční podobnosti při výběru vhodného dárce, významnou roli při adaptaci a následně i dlouhodobé funkci ženského dárcovského srdce v těle mužského příjemce (Al-Khaldi a spol. 2006).

V transplantační literatuře jsou zmiňovány i genetické a hormonální faktory, které mohou, alespoň částečně, vysvětlit uvedené rozdíly. V kapitole o pohlavních odlišnostech za fyziologických okolností byl popsán rozdíl v úbytku srdečních buněk v průběhu života v závislosti na pohlaví. U dospělých mužů dochází každý rok k úbytku přibližně 64 milionů myocytů s kompenzatorní hypertrofií zbývajících srdečních buněk, zatímco u žen se počet myocytů v průběhu života prakticky nemění (Olivetti 1995). Pokud je tato skutečnost podmíněna hormonálně, pak se lze domnívat, že po transplantaci ženského srdce do mužského těla, může k obdobným změnám docházet i v transplantovaném orgánu, se stejnou nebo dokonce ještě s větší intenzitou, neboť srdce je nejen zbaveno protektivního vlivu ženských pohlavních hormonů, ale současně je zároveň vystaveno působení mužských pohlavních hormonů (Al-Khaldi a spol. 2006). Přítomnost pohlavních rozdílů v odpovědi srdečního svalu na nedostatek kyslíku během studené ischémie srdečního štěpu při transplantaci srdce nebyla dosud studována.

#### **4.5.2 Markery buněčné smrti v dárcovském myokardu při primárním selhání štěpu**

Primární selhání štěpu je velmi obávaná komplikace transplantace srdce, která je spojena s vysokou mortalitou. Je definována jako dysfunkce levé a/nebo pravé komory srdeční, která se vyskytne do 24 hodin po transplantaci a není způsobena hyperakutní rejekcí, vysokou plicní rezistencí nebo chirurgickou komplikací (Kobashigawa a spol. 2014). Před zavedením uvedené definice byla incidence primárního selhání štěpu uváděna v různých studiích v rozmezí od 2.3% do 28.2% (Lima a spol. 2006, Ibrahim a spol. 2007, Oto a spol. 2008, D'Ancona a spol. 2010, Russo a spol. 2010, D'Alessandro a spol. 2010, Segovia a spol. 2011, Marasco a spol. 2012). Patogeneze primárního selhání štěpu není dosud objasněna, ale jedním z hlavních předpokládaných důvodů jeho vzniku je I/R poškození, zvláště při dlouhém trvání studené ischémie (Iyer a spol. 2011). Roli může hrát i poškození srdečního štěpu při mozkové smrti (Ranasinghe a Bonser 2011).

Predikce primárního selhání štěpu je velice složitá. Existují práce, které dávají do souvislosti primární selhání štěpu a zvýšené plazmatické koncentrace srdečních troponinů u dárce. Potapov a spol. (2001) prokázali, že výrazně zvýšené plazmatické koncentrace troponinů

u dárce (troponin I > 1.6 mcg/l a troponin T > 0.1 mcg/l) predikují dysfunkci štěpu po transplantaci a doporučují proto stanovení jejich hladiny za účelem výběru vhodného dárce. Khush a spol. (2007) pozorovali, že středně zvýšená plazmatická koncentrace troponinu I (> 1.0 mcg/l) byla spojena s delší hospitalizací, ale neměla vliv na mortalitu či nutnost užití mechanické podpory oběhu po transplantaci.

Na rozvoji primárního selhání štěpu se může významnou měrou podílet i programovaná buněčná smrt. Stoica a spol. (2003) pozorovali zvýšenou expresi genů spojených s apoptózou (bcl-2, caspase-3, FAS ligand) v dárcovských srdcích ve srovnání s kontrolní skupinou. Chalabreysse a spol. (2004) prokázali, že mozková smrt měla za následek indukci apoptózy v pravé komoře, ale vysoký výskyt apoptózy v bioptických vzorcích myokardu nekoreloval s funkcí srdce po transplantaci. Mozková smrt bezpochyby vede k aktivaci apoptózy, ale její výskyt a intenzita pravděpodobně není spolehlivým prediktorem dysfunkce dárcovského srdečního štěpu v potransplantačním období.

V naší studii zahrnující 64 po sobě jdoucích pacientů, kteří podstoupili transplantaci srdce v období od září 2010 do ledna 2013, jsme hledali případnou souvislost primárního selhání štěpu se zvýšením vybraných markerů buněčné smrti. K průkazu myokardiální nekrózy jsme poprvé použili metodu „high sensitive cardiac TnT“ (hs-cTnT). Vzorek krve dárce byl odebrán těsně před otevřením perikardu. Následně byl, ještě před naložením příčné svorky na vzestupnou aortu a podáním kardioplegického roztoku, proveden odběr vzorku myokardu z pravé komory za účelem průkazu apoptózy (imunohistochemická detekce caspase-3, active + pro-caspase-3, bcl-2 a detekční metoda TUNEL). Odběr orgánu probíhal podle našeho interního protokolu, asystolie byla navozena kardioplegickým roztokem St. Thomas s bikarbonátem (1500 ml, pH 7.4) o teplotě od 4° do 10°C. Srdeční štěp byl po vyjmutí z těla dárce uložen do chladného kardioplegického roztoku a transportován v boxu s ledovou tříští. Po vybalení dárcovského srdce z transportního boxu na našem operačním sále byla ihned podána studená krevní kardioplegie, která byla následně během konstrukce anastomóz až do ukončení doby studené ischemie každých 20 minut opakována.

V období po transplantaci došlo k rozvoji primárního selhání srdečního štěpu dle nové definice u osmi (14%) pacientů. Mezi skupinou pacientů, u nichž došlo k rozvoji primárního selhání štěpu a skupinou bez této komplikace, nebyl rozdíl z hlediska věku dárce ( $40,4 \pm 1,8$  vs.  $39,8 \pm 5,8$  let), věku příjemce ( $52,2 \pm 1,8$  vs.  $47,5 \pm 3,4$  let) ani v dalších parametrech, které zahrnovaly příčinu srdečního selhání příjemce, pohlaví dárce a příjemce (tabulka č. 8). Rozdíl

mezi skupinami nebyl ani v četnosti pacientů s mechanickou podporou oběhu a významně se nelišila ani doba studené ischémie ( $141 \pm 7,3$  vs.  $157 \pm 16,7$  min.).

	Bez PGD (n = 56)	PGD (n = 8)	
Věk dárce (průměr ± SD)	$40,4 \pm 1,8$	$39,8 \pm 5,8$	n.s.
Věk příjemce (průměr ± SD)	$52,2 \pm 1,8$	$47,5 \pm 3,4$	n.s.
Pohlaví dárce (muži/ženy)	36/20	3/5	n.s.
Pohlavní příjemce (M/Ž)	44/12	6/2	n.s.
Ischemická KMP	21	1	n.s.
Dilatační KMP	31	5	n.s.
Jiné diagnózy	4	2	n.s.
MSP před OTS	15	4	n.s.
Doba ischémie (min.)	$141 \pm 7,3$	$157 \pm 16,7$	n.s.

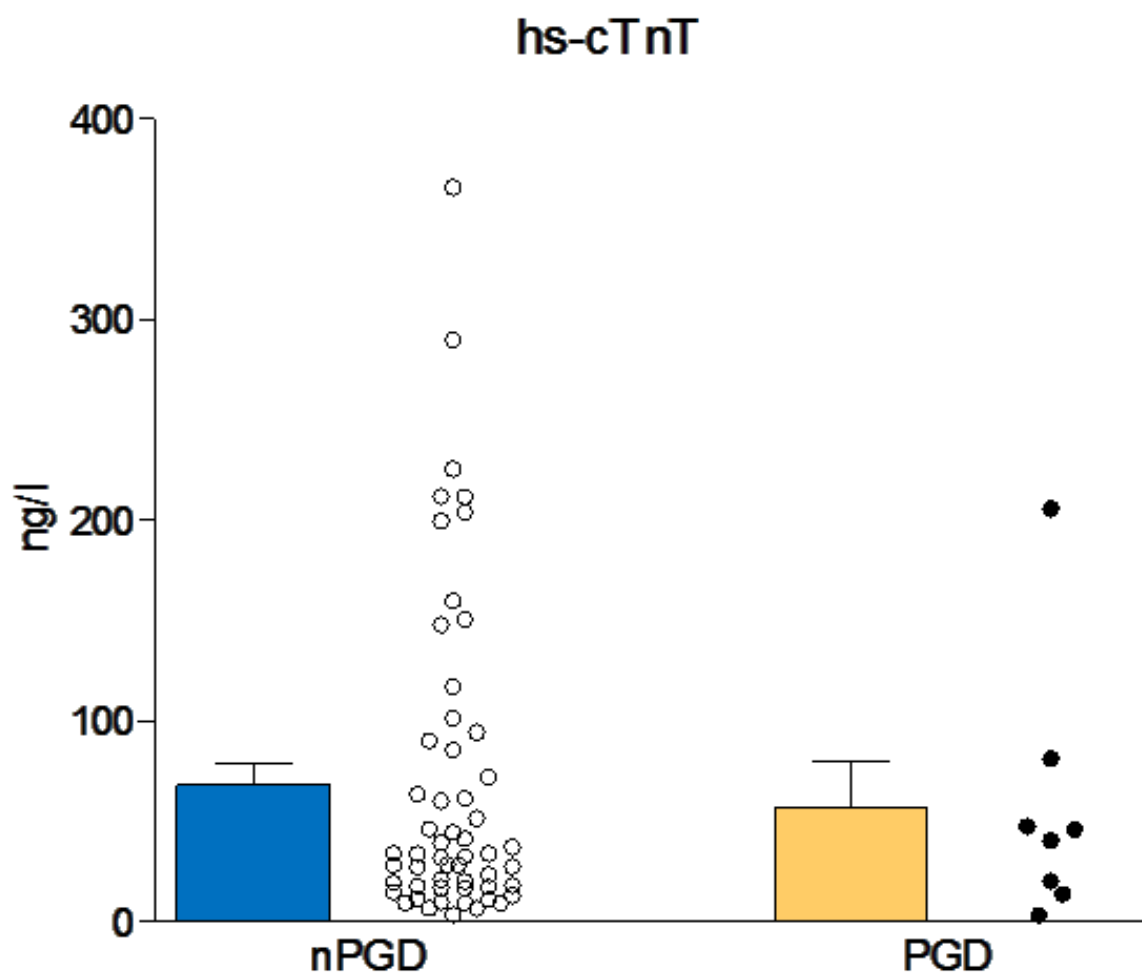
*Tabulka č. 8: Základní údaje o dárcích a příjemcích, rozděleno do skupin podle výskytu primárního selhání štěpu (PGD). (Szarszoi a spol. 2016)*

Ve skupině pacientů s výskytem primárního selhání štěpu po transplantaci srdce byla převaha mužských příjemců (6/8), zatímco mezi dárci převažovaly ženy (5/8). Zajímavé je zjištění, že u tří pacientů z této skupiny došlo k transplantaci ženského allograftu mužskému příjemci (3/8). Selhání levé komory bylo pozorováno u 4 pacientů, selhání pravé komory u 6 pacientů; ve 2 případech se tedy jednalo o oboustranné srdeční selhání. Navzdory výskytu této obávané komplikace bylo 30-denní přežití pacientů 100%. Podrobnější údaje o pacientech s výskytem primárního selhání štěpu uvádí tabulka č. 9.

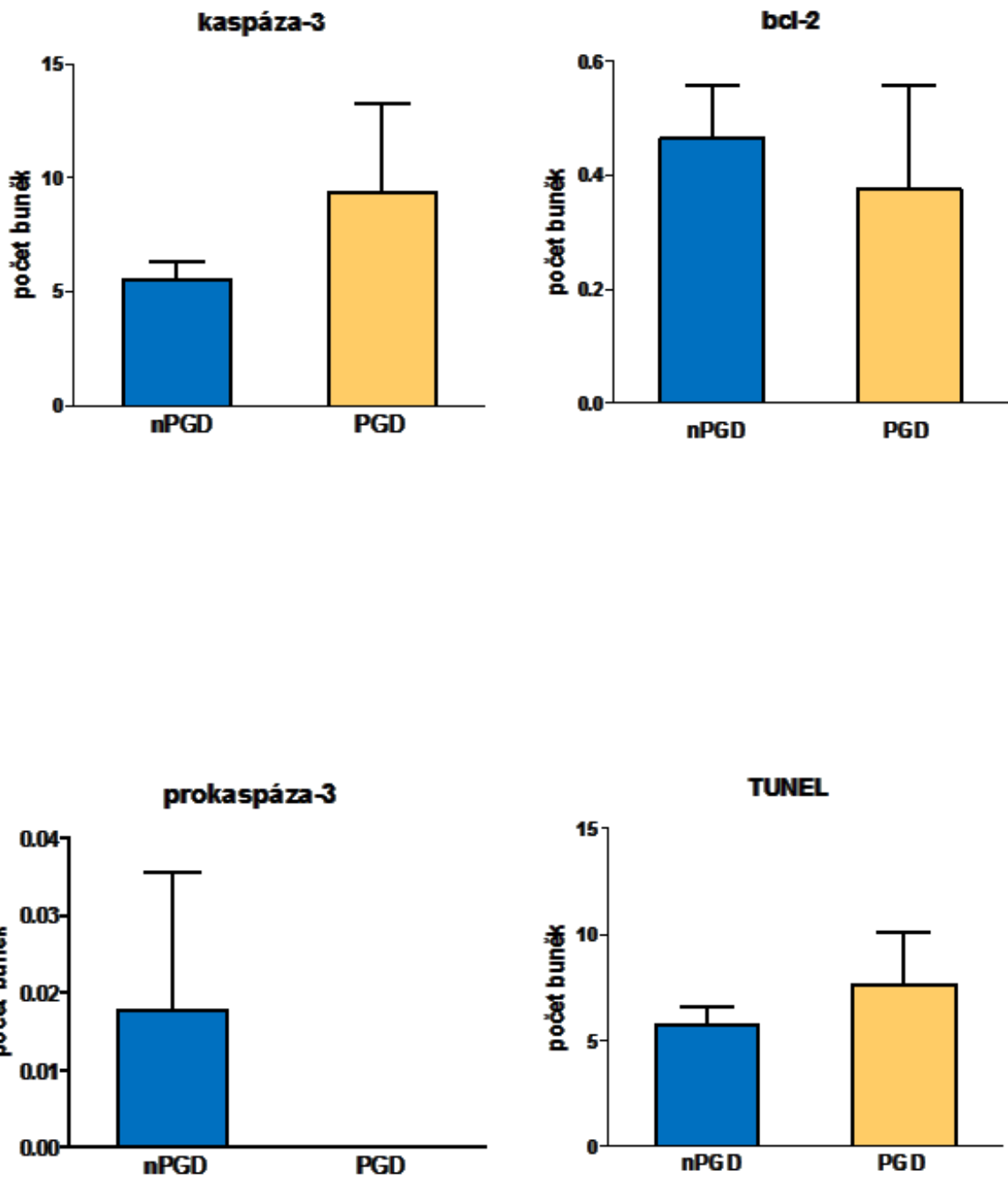
Pacient	Pohlaví dárce	Pohlaví příjemce	Doba ischémie	PAR (WU)	Selhání LK	Selhání PK
1	M	M	83	1,3	+	+
2	M	M	168	1,8	-	+
3	M	M	178	1,9	-	+
4	Ž	Ž	179	1,2	-	+
5	Ž	Ž	140	1,2	-	+
6	Ž	M	225	3,3	+	+
7	Ž	M	188	1,8	+	-
8	Ž	M	100	2,9	+	-

*Tabulka č. 9: Údaje o pacientech s výskytem primárního selhání štěpu (PAR uvedena ve Woodových jednotkách, přítomnost selhání levé/pravé komory označena +, nepřítomnost označena -), doba studené ischémie uvedena v minutách. (Szarszoi a spol. 2016)*

Plazmatická hladina hs-cTnT u skupiny s rozvojem primárního selhání štěpu ( $57.4 \pm 22.9$  ng/L) a hladina hs-cTnT u skupiny pacientů bez dysfunkce štěpu ( $68.4 \pm 10.8$  ng/L) se významně nelišila (graf č. 6). Nelišil se ani výskyt a stupeň apoptózy mezi skupinou s primárním selháním štěpu a skupinou, kde k primárnímu selhání štěpu po transplantaci nedošlo (graf č. 7). Sledované markery obou hlavních typů buněčné smrti (nekrózy a apoptózy) nebyly v námi studovaném souboru prediktorem rozvoje primárního selhání štěpu po transplantaci srdce.



Graf č. 6: Plazmatická koncentrace high-sensitive troponinu T (hs-cTnT) u dárců srdce. Nebyl nalezen statisticky významný rozdíl mezi hladinou hs-cTnT po transplantaci u skupiny pacientů s primárním selháním štěpu (PGD) a skupinou bez selhání štěpu (nPGD). (Szarszoi a spol. 2016)



Graf č. 7: Markery apoptózy u skupiny pacientů s primárním selháním štěpu (PGD) a skupinou bez selhání štěpu (nPGD) po transplantaci srdce. (Szarszoi a spol. 2016)

### 4.5.3 Citlivost mužského a ženského myokardu k ischemii během transplantace srdce

Dosud nebyla publikována žádná práce, která by se věnovala problematice pohlavních rozdílů ve výskytu nekrózy a apoptózy v dárcovském srdci při transplantaci srdce. Přitom rozdílná odpověď srdečního svalu na nedostatek kyslíku během studené ischemie srdečního štěpu v závislosti na pohlaví dárce může být jednou z příčin rozdílných výsledků po transplantaci srdce (Iyer a spol. 2011).

Do prospektivní studie jsme zařadili 81 po sobě jdoucích pacientů, kteří na naší klinice podstoupili transplantaci srdce v období od září 2010 do ledna 2013. Pacienti byli rozděleni do dvou skupin podle pohlaví dárce. Mužské srdce bylo transplantováno 49 pacientům, ženské srdce 32 pacientům. Předoperační údaje příjemců srdce uvádí tabulka č. 10.

	Dárce - muž	Dárce - žena	Hodnota p
Počet pacientů	49	32	
Věk (průměr ± SD)	51,8 ± 1,8	49,8 ± 2,7	0,50
BMI (průměr ± SD)	25,1 ± 0,5	24,5 ± 0,7	0,44
Diabetes mellitus	5	7	0,15
Hypertenze	7	4	0,45
Kreatinin (μmol/l)	103,1 ± 317	95,65 ± 6,0	0,27
Ischemická KMP	18	9	0,42
Dilatační KMP	29	15	0,28
Jiné diagnózy	2	8	0,005
Kouření v anamnéze	4	3	0,59
Inotropika před OTS	11	7	0,97
MSP před OTS	19	11	0,69

Tabulka č. 10: Předoperační údaje příjemců srdce, rozděleno do skupin dle pohlaví dárce. (Smetana a spol., v tisku)

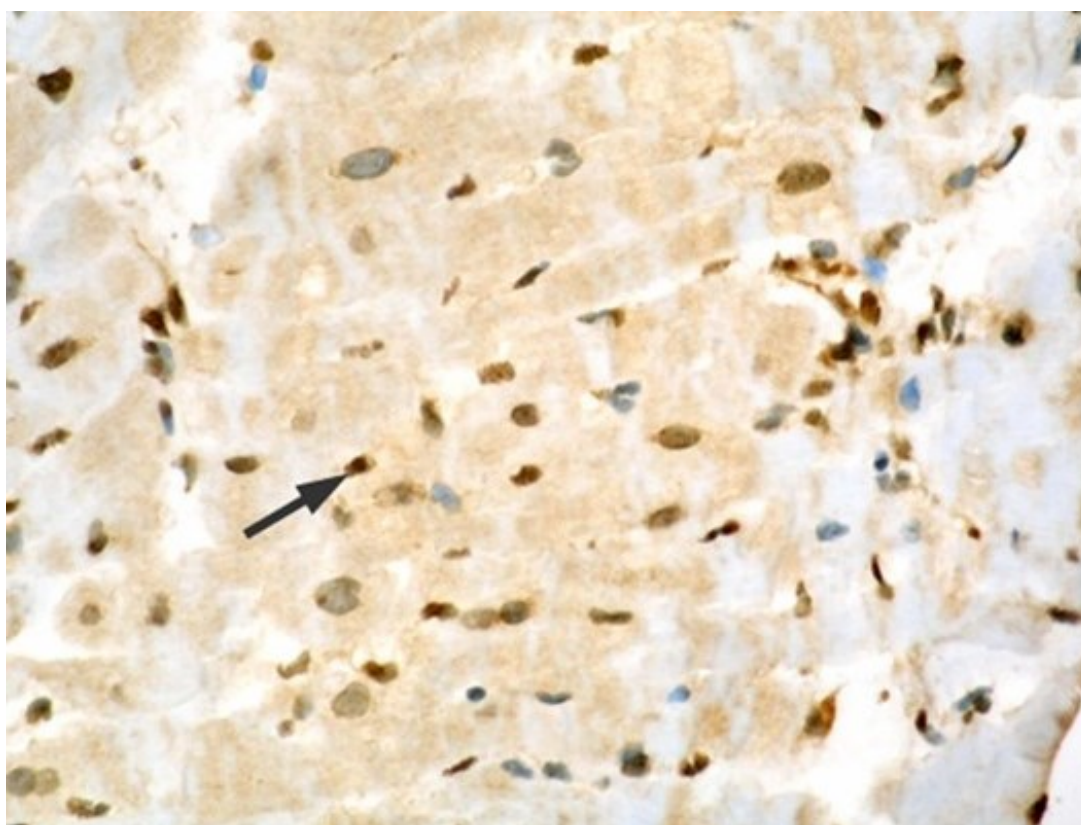


Všichni dárce splňovali standartní kritéria kardiocentra IKEM pro dárce srdce. Odběr orgánu probíhal podle našeho interního protokolu, asystolie byla navozena kardioplegickým roztokem St. Thomas s bikarbonátem (1500 ml, pH 7.4) o teplotě od 4° do 10°C. Srdeční štěp byl po vyjmutí z těla dárce uložen do chladného kardioplegického roztoku a transportován v boxu s ledovou tříští. Po vybalení dárcovského srdce z transportního boxu na našem operačním sále byla ihned podána studená krevní kardioplegie, která byla následně během konstrukce anastomóz až do ukončení doby studené ischémie každých 20 minut opakována. Základní údaje o dárcích před odběrem a dobu ischémie srdečního štěpu uvádí tabulka č. 11.

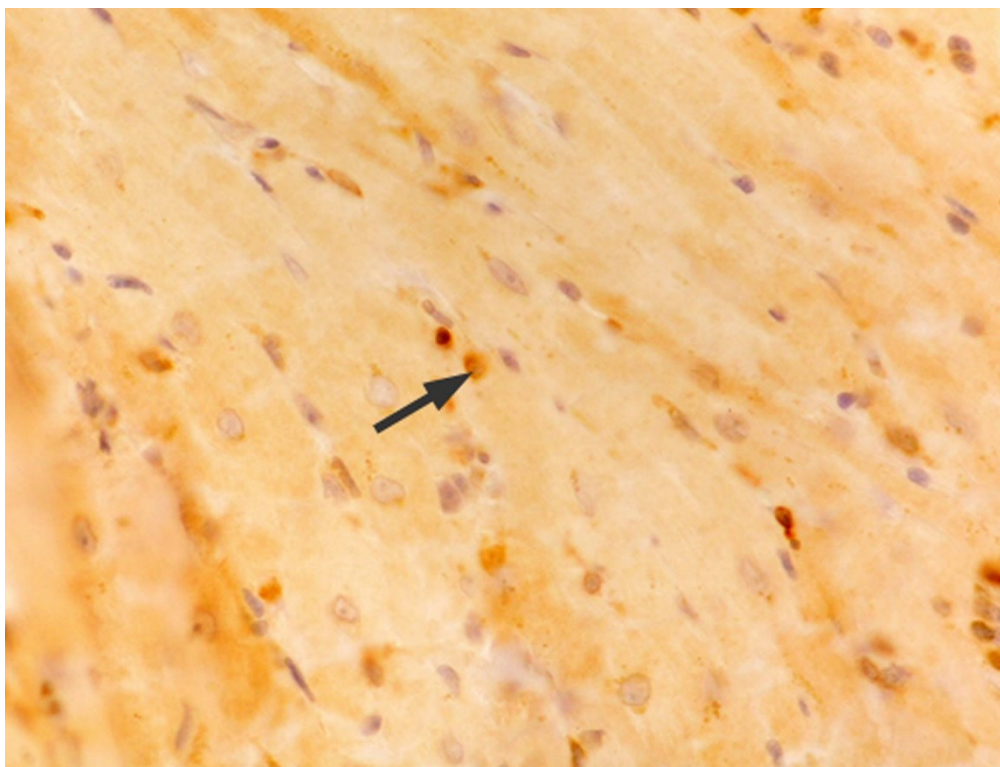
	Dárce - muž	Dárce - žena	Hodnota p
Počet	49	32	
Věk (průměr ± SD)	39,6 ± 1,7	42,3 ± 2,7	0,38
BMI (průměr ± SD)	26,5 ± 0,6	25,0 ± 0,7	0,11
Diabetes mellitus	0	0	0,21
Hypertenze	7	6	0,59
EF LK (%)	63,4 ± 0,7	64,5 ± 1,3	0,45
Kouření v anamnéze	4	2	0,71
Příčina úmrtí:			
CMP	14	22	0,0004
Trauma	25	8	0,0198
Jiné	10	2	0,08
Inotropika	42	25	0,29
Doba ischémie (min.)	146,0 ± 7,8	141,1 ± 9,0	0,70

*Tabulka č. 11: Základní údaje o dárcích před odběrem a doba ischémie srdečního štěpu. (Smetana a spol., v tisku)*

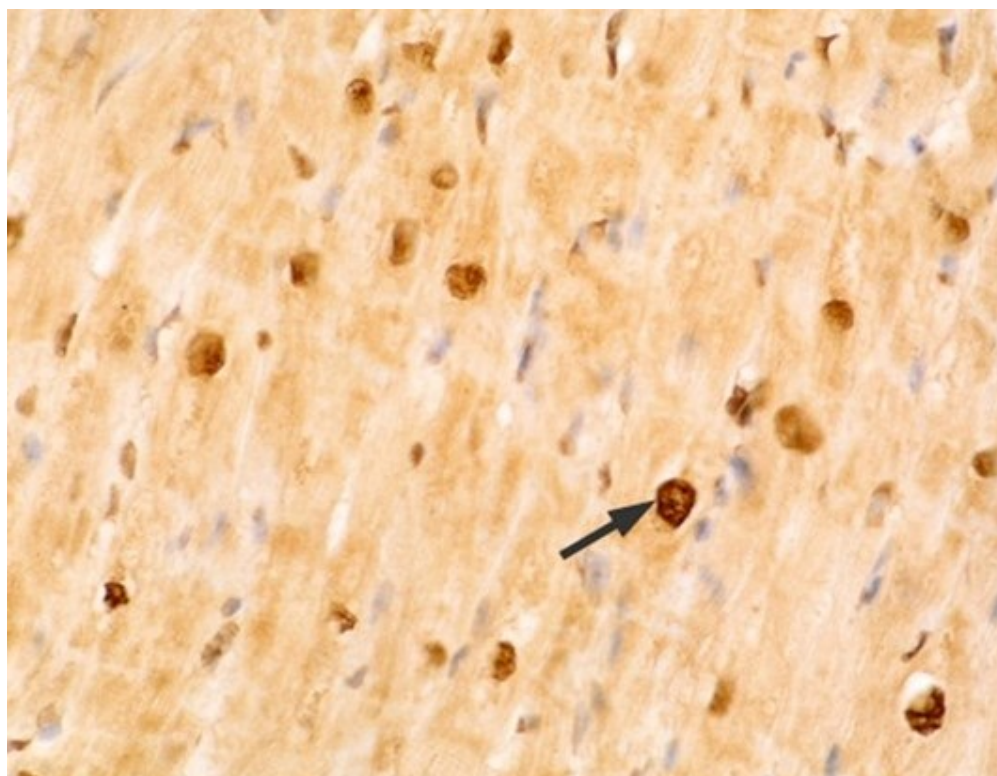
Metodou „high-sensitive cardiac TnT“ (hs-cTnT) byla zjišťována plazmatická koncentrace srdečního troponinu T u dárce srdce (vzorek krve byl odebrán před otevřením perikardu) a rovněž u příjemce v následujících časových intervalech: před provedením sternotomie, 2 hodiny po transplantaci, 24 hodin po transplantaci, 3 dny a 7 dní po operaci. Apoptóza byla hodnocena ve vzorcích myokardu, získaných biopsií z pravé komory před podáním kardioplegie v těle dárce, 20 minut po ukončení studené ischemie v těle příjemce a pomocí endomyokardiální biopsie 7 dní po transplantaci. Imunohistochemicky byly detekovány markery apoptózy caspase-3 a bcl-2, současně byla apoptóza detekována pomocí metody TUNEL (obr. 5-7).



*Obr. 5: Imunohistochemické vyšetření vzorku tkáně – šipka označuje caspase-3 pozitivní jádro*



*Obr. 6: Imunohistochemické vyšetření myokardu – šipkou označeno bcl-2 pozitivní jádro*

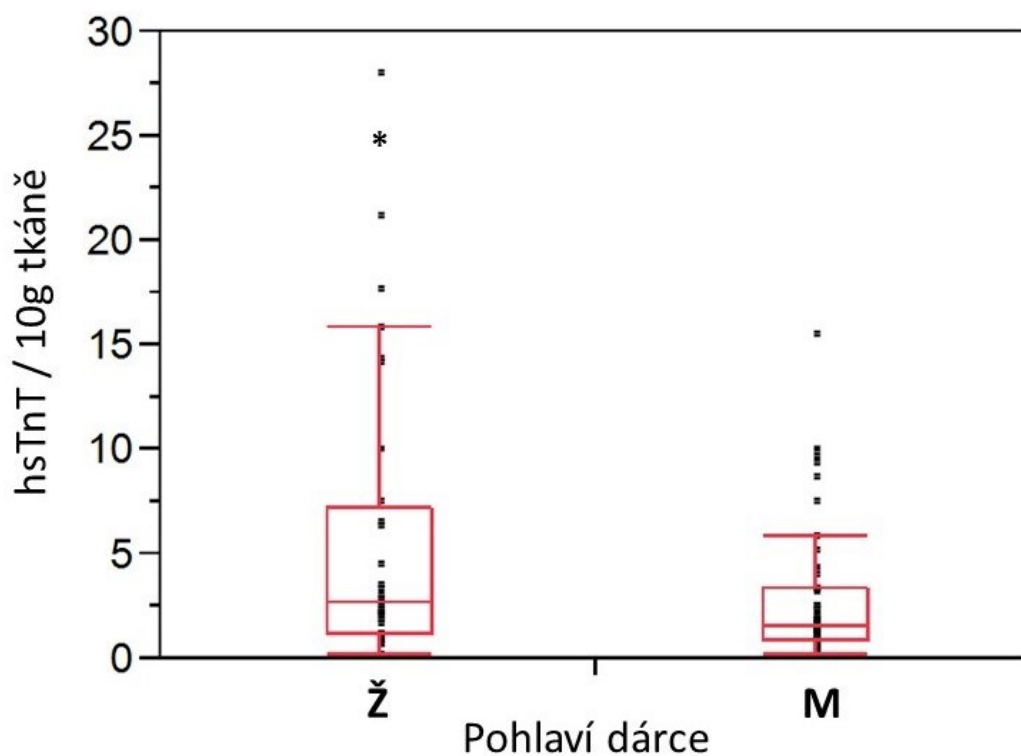


*Obr. 7: Imunohistochemické vyšetření myokardu – šipkou označeno TUNEL pozitivní jádro*

Vzhledem k tomu, že hmotnost srdce je u žen a mužů rozdílná (podrobněji popsáno v kapitole o pohlavních rozdílech za fyziologických okolností), přepočítali jsme hladinu hs-TnT na jednotku hmotnosti srdeční tkáně. Vážení dárcovských srdcí během transplantace nebylo prakticky proveditelné, proto byla hmotnost obou srdečních komor vypočtena pomocí vzorců uvedených v literatuře. Hmotnost levé komory byla vypočtena podle vzorce: Masa myokardu levé komory (g) =  $a \cdot \text{Výška dárce}^{0.54} \text{ (m)} \cdot \text{Hmotnost dárce}^{0.61} \text{ (kg)}$ . Při výpočtu hmotnosti LK u žen byla hodnota  $a = 6.82$ , u mužů  $a = 8.25$ . Pro výpočet hmotnosti pravé komory byl použit jiný vzorec: Masa myokardu pravé komory (g) =  $a \cdot \text{Věk dárce}^{-0.32} \text{ (roky)} \cdot \text{Výška dárce}^{1.135} \text{ (m)} \cdot \text{Hmotnost}^{0.315} \text{ (kg)}$ , kde  $a = 10.59$  u žen a  $a = 11.25$  u mužů (Reed a spol. 2014).

V námi studovaném souboru nebyl významný rozdíl v základních demografických údajích mezi skupinou mužských a ženských dárců s výjimkou příčiny úmrtí; u ženských dárců byl vyšší výskyt intracerebrálních hemoragií. Průměrná doba studené ischemie dárcovského srdce se u obou skupin významně nelišila:  $146 \pm 7,8$  minut u skupiny s mužským štěpem a  $141 \pm 9,0$  minut u skupiny se ženským allograftem. Jediným rozdílem mezi skupinami příjemců byl větší počet pacientů v terminálním stádiu onemocnění některé ze srdečních chlopní ve skupině příjemců ženského allograftu.

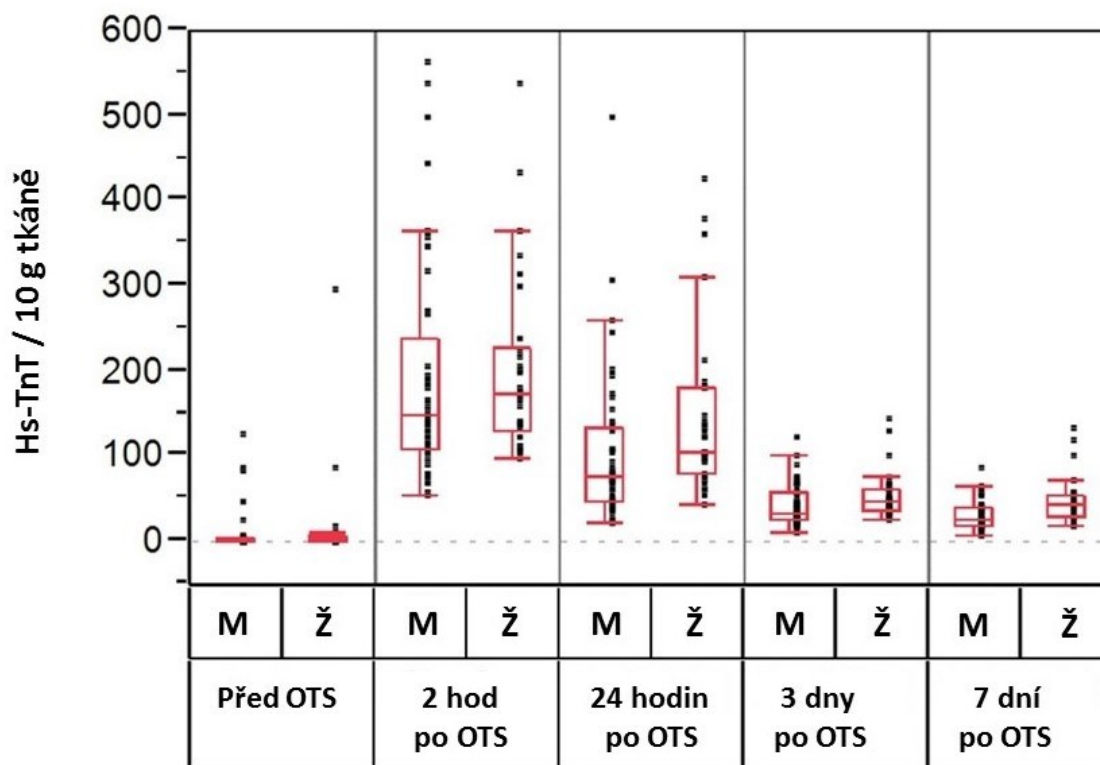
Před transplantací byla plazmatická koncentrace troponinu T přepočtená na jednotku hmotnosti srdeční tkáně signifikantně vyšší u dárců ženského pohlaví ( $p=0.025$ , graf č. 8). Ve výskytu markerů apoptózy v dárcovském srdci (bcl-2, caspase-3, TUNEL) před transplantací nebyl mezi muži a ženami rozdíl.



Graf č. 8 – Plazmatická koncentrace high-sensitive troponinu T (hs-TnT) přepočtená na jednotku hmotnosti srdeční tkáně u dárce srdce před transplantací - signifikantně vyšší hladina u dárců ženského pohlaví. (Smetana a spol., v tisku)

\* $P=0.025$  ženy (Ž) vs. muži (M)

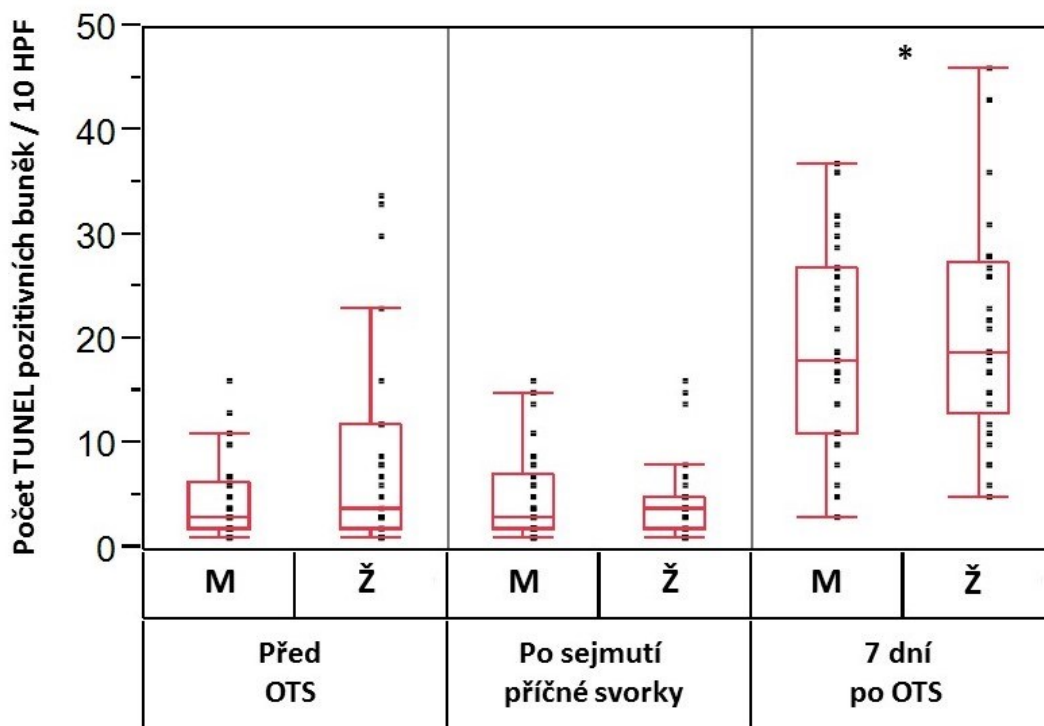
V celém sledovaném období po transplantaci jsme pozorovali vyšší plazmatickou koncentraci troponinu T přepočtenou na jednotku hmotnosti srdeční tkáně u srdcí od ženských dárců ( $p=0.011$ , graf č. 9) s maximem 24 hodin po ukončení studené ischemie srdečního štěpu.



Graf č. 9 – Plazmatická koncentrace high-sensitive troponinu T (hs-TnT) přepočtená na jednotku hmotnosti srdeční tkáně u pacientů po transplantaci srdce (OTS) s mužským štěpem (M) a ženským štěpem (Ž). V celém sledovaném období byla signifikantně vyšší hladina u pacientů s ženským štěpem ( $p=0.011$ ) s maximem 24 hodin po transplantaci. (Smetana a spol., v tisku)



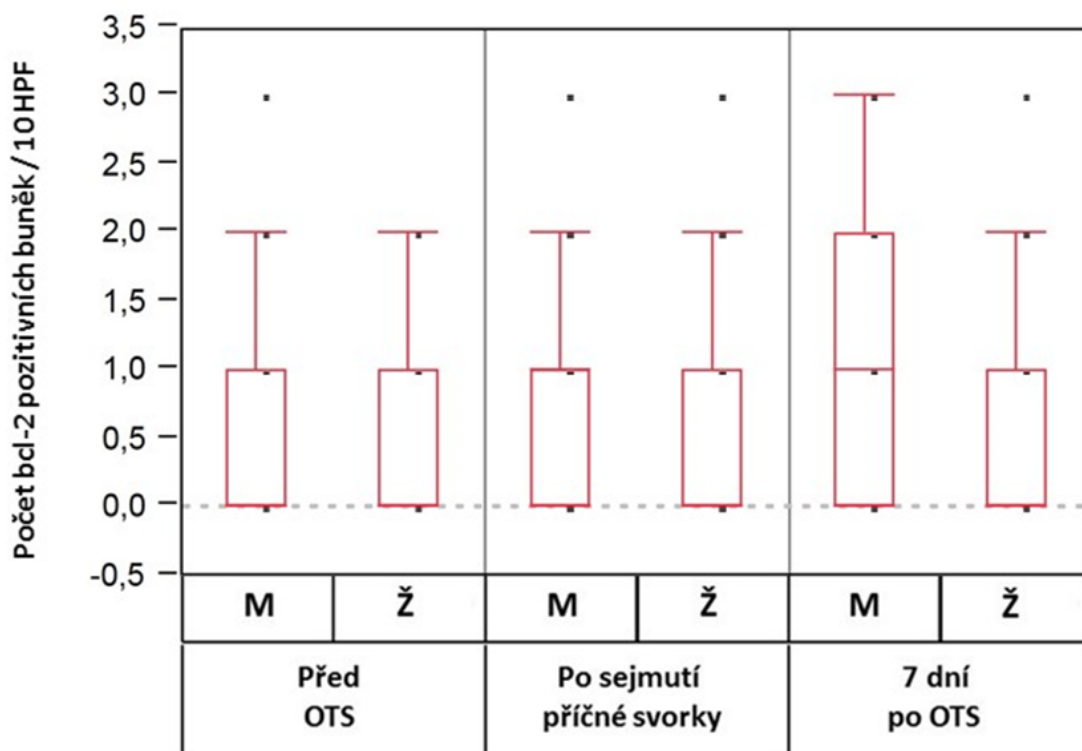
Pozorovali jsme významně vyšší počet TUNEL pozitivních myocytů v dárcovských srdcích obou pohlaví 7 dní po transplantaci ve srovnání s počtem před transplantací (mužské allografty  $19.2 \pm 1.6$  vs.  $4.4 \pm 0.6$ ; ženské allografty  $20.7 \pm 1.9$  vs.  $8.7 \pm 1.9$ ,  $P < 0.001$ ); rozdíl v počtu TUNEL pozitivních myocytů mezi mužskými a ženskými allografty 7 dní po transplantaci nebyl pozorován (graf č. 10).



Graf č. 10 – Počet TUNEL pozitivních buněk na 10 HPF (high-power field) před a po OTS v mužských (M) a ženských (Ž) allograftech. (Smetana a spol., v tisku)

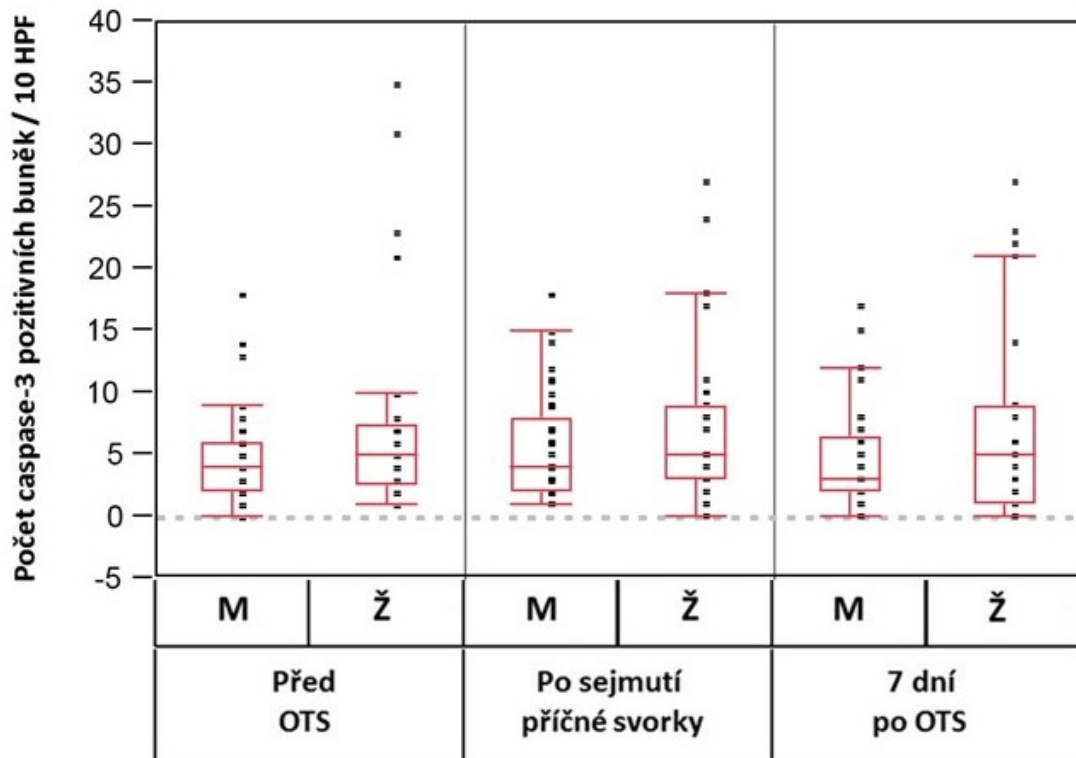
\* $P < 0.001$ , počet TUNEL pozitivních buněk u allograftů obou pohlaví 7 dní po OTS vs. před OTS

Ve sledovaném období jsme nenalezli rozdíly v expresi bcl-2 (graf č. 11) a caspase-3 (graf č. 12) v srdcích od ženských a mužských dárců před a po transplantaci.



Graf č. 11 – Počet bcl-2 pozitivních buněk na 10 HPF (high-power field) před a po OTS v mužských (M) a ženských (Ž) allograftech. (Smetana a spol., v tisku)





Graf č. 12 – Počet caspase-3 pozitivních buněk na 10 HPF (high-power field) před a po OTS v mužských (M) a ženských (Ž) allograftech. (Smetana a spol., v tisku)

Naše výsledky ukazují na větší subklinické poškození ženského dárcovského srdce již před odběrem orgánu před transplantací. Vyšší plazmatické koncentrace srdečního troponinu T, přepočtené na jednotku hmotnosti srdeční tkáně, nalézáme nejen těsně před odběrem srdečního štěpu, ale i po celé sledované období po transplantaci srdce, s maximem 24 hodin po ukončení studené ischemie.

Tento fakt by mohl být jedním z důvodů horších výsledků po transplantaci srdce při použití ženského allograftu. Nejde jen o akutní I/R poškození dárcovského srdce, přispívající pravděpodobně k rozvoji primárního selhání štěpu při vlastní transplantaci a časném pooperačním období (Iyer a spol. 2011), ale též o ischemií navozené změny, které mají za následek poruchu funkce transplantovaného orgánu s časovým odstupem, podobně jako je tomu u transplantace ledvin (Zeier a spol. 2002).

V experimentu bylo prokázáno, že zdravý samičí myokard vykazuje vyšší odolnost vůči ischemii než zdravý myokard samčí (přehled viz Johnson a spol. 2006). Podobné pohlavní rozdíly

Lze sledovat i v klinické praxi po katetrizačních intervencích pro ischemickou chorobu srdeční (Tan a spol. 2015, Ng a spol. 2016) nebo po kardiochirurgických operacích (Guru a spol. 2004, Toumpolis a spol. 2006, Bešík a spol. 2009). Jak tedy vysvětlit větší poškození ženského dárcovského štěpu při srdeční transplantaci? Je třeba vzít v úvahu, že experimentální práce byly prováděny na zvířatech anestetizovaných, případně okamžitě po usmrcení pokusného zvířete (např. dekapitací), tedy na srdcích, které nebyly vystaveny destruktivním pochodům, které probíhají při mozkové smrti. Podobně, klinické studie zahrnují pacienty s akutním infarktem, pacienty po perkutánních nebo kardiochirurgických intervencích, tedy osoby, u kterých nedošlo k mozkové smrti. Jedinou situací, kdy se setkáváme se srdcem poškozeným v rámci patofyziologických změn, probíhajících při smrti mozku, je transplantace srdce. Vzhledem k tomu, že vyšší plazmatická koncentrace srdečního troponinu T, přepočtená na jednotku hmotnosti srdeční tkáně, je u dárců ženského pohlaví přítomna již před odběrem srdce, lze usuzovat na odlišné poškození dárcovského štěpu při smrti mozku. Proto by se další výzkum měl zaměřit na hledání pohlavních rozdílů v poškození srdečního štěpu při mozkové smrti. Detailní znalost těchto patofyziologických pochodů by mohla vést k sofistikovanější selekci vhodných dárců nebo k modifikaci péče o dárce srdce v závislosti na pohlaví a tím přispět ke zlepšení klinických výsledků srdeční transplantace.

## 5. SOUHRN

Hlavní výsledky habilitační práce lze stručně shrnout v následujících bodech:

- Nalezli jsme pohlavní rozdíly v odolnosti srdečního svalu dospělých spontánně hypertenzních potkanů k I/R poškození: reparace kontraktility byla u samic významně vyšší než u samců. Srdce SHR samic jsou tedy odolnější k akutnímu nedostatku kyslíku, než srdce stejně starých SHR samců.
- Zjistili jsme, že perinatální hypoxie významně ovlivňuje odolnost dospělého srdečního svalu k nedostatku kyslíku a to v závislosti na pohlaví jedince. Intermitentní hypobarická perinatální hypoxie u samců laboratorního potkana má výrazný proarytmogenní efekt; v porovnání s kontrolní skupinou dochází ke zvýšení počtu všech sledovaných typů arytmií. Naopak u samic jsme pozorovali antiarytmický účinek, který se projevil prokazatelným snížením počtu ischemických arytmií.
- Retrospektivní hodnocení perioperačního a pooperačního průběhu mladých pacientů, kteří podstoupili náhradu aortální chlopně pro izolovanou aortální stenózu, prokázalo pohlavní rozdíl ve výskytu přechodné atrioventrikulární blokády vyššího stupně; její přítomnost byla u mužů významně vyšší než u žen. Vzhledem k tomu, že buňky převodního systému jsou velmi citlivé k nedostatku kyslíku, projevilo se perioperační I/R poškození právě na poruše funkce tohoto systému.
- Hledali jsme souvislost mezi výskytem primárního selhání štěpu po transplantaci srdce s elevací vybraných markerů buněčné smrti v těle dárce. Sledované markery obou hlavních typů buněčné smrti (nekrózy a apoptózy) nebyly v námi studovaném souboru prediktorem rozvoje primárního selhání štěpu po transplantaci. Bude pravděpodobně nutné podrobnější mapování signálních kaskád vedoucích k zániku kardiomyocytů a zaměřit se i na roli třetího typu buněčné smrti – autofágie.

- Pozorovali jsme větší subklinické poškození ženského dárcovského srdce při transplantaci. Vyšší plazmatické koncentrace srdečního troponinu T přepočtené na jednotku hmotnosti srdeční tkáně nalézáme u dárců ženského pohlaví již před odběrem srdce, z čehož lze usuzovat na pravděpodobně větší poškození ženského allograftu při smrti mozku. Vyšší plazmatická koncentrace troponinu T u příjemců ženského štěpu přetrvává i v období po transplantaci, s maximem 24 hodin po ukončení studené ischémie. Tento fakt by mohl být jedním z důvodů horších výsledků po transplantaci srdce při použití ženského allograftu.

## **6. ZÁVĚR**

Experimentální i klinické studie jednoznačně prokazují existenci pohlavních rozdílů v citlivosti srdečního svalu k nedostatku kyslíku. Příčiny těchto rozdílů nebyly dosud jednoznačně vysvětleny. Z dostupných dat je zřejmé, že mužské a ženské srdce se významně liší v mnoha ohledech. Domníváme se, že rozdíly jsou tak závažné, že by na ně měl být již dnes brán zřetel v klinické praxi při volbě správných diagnostických a léčebných postupů.

## 7. LITERATURA

- AKHTER N, MILFORD-BELAND S, ROE MT, PIANA RN, KAO J, SHROFF A: Gender differences among patients with acute coronary syndromes undergoing percutaneous coronary intervention in the American College of Cardiology-National Cardiovascular Data Registry (ACC-NCDR). *Am Heart J* 157: 141-8, 2009.
- ALDEA GS, GAUDIANI JM, SHAPIRA OM, JACOBS AK, WEINBERG J, CUPPLES AL, LAZAR HL, SHEMIN RJ: Effect of gender on postoperative outcomes and hospital stays after coronary artery bypass grafting. *Ann Thorac Surg.* 67: 1097-103, 1999.
- ALFREDSON J, STENESTRAND U, WALLENTIN L, SWAHN E: Gender differences in management and outcome in non-ST-elevation acute coronary syndrome. *Heart* 93: 1357-62, 2007.
- AL-KHALDI A, OYER PE, ROBBINS RC: Outcome analysis of donor gender in heart transplantation. *J Heart Lung Transplant.* 25: 461-8, 2006.
- APPLE FS, JESSE RL, NEWBY LK, WU AH, CHRISTENSON RH, CANNON CP, FRANCIS G, MORROW DA, RAVKILDE J, STORROW AB, TANG W, JAFFE AS, MAIR J, ORDONEZ-LLANOS J, PAGANI F, PANTEGHINI M, TATE J: National Academy of Clinical Biochemistry and IFCC Committee for Standardization of Markers of Cardiac Damage Laboratory Medicine Practice Guidelines: analytical issues for biochemical markers of acute coronary syndromes. *Clin Chem.* 53: 547-51, 2007.
- APPLE FS, LER R, MURAKAMI MM: Determination of 19 cardiac troponin I and T assay 99th percentile values from a common presumably healthy population. *Clin Chem.* 58: 1574-81, 2012.
- ARIAS-LOZA PA, JAZBUTYTE V, PELZER T: Genetic and pharmacologic strategies to determine the function of estrogen receptor alpha and estrogen receptor beta in cardiovascular system. *Gen Med.* 5 Suppl A: S34-45, 2008.
- ARIELI Y, GURSAHANI H, EATON MM: Gender modulation of Ca<sup>2+</sup> uptake in cardiac mitochondria. *J Mol Cardiol* 37: 507-513, 2004.
- ASHRUF JF, INCE C, BRUINING HA: Regional ischemia in hypertrophic Langendorff-perfused rat hearts. *Am J Physiol* 277: H1532-9, 1999.
- BAE S, ZHANG L: Gender differences in cardioprotection against ischemia/reperfusion injury in adult rat hearts: focus on akt and protein kinase C signaling. *Pharmacol Exp Therap* 315: 1125-1135, 2005.

- BARBIR M, LAZEM F, ILSLEY C, MITCHELL A, KHAGHANI A, YACOUB M: Coronary artery surgery in women compared with men: analysis of coronary risk factors and in-hospital mortality in a single centre. *Br Heart J*. 71: 408–12, 1994.
- BARKER DJ: In utero programming of cardiovascular disease. *Theriogenology*. 53: 555-74, 2000.
- BARNARD CN: The operation. A human cardiac transplant: an interim report of a successful operation performed at Groote Schuur Hospital, Cape Town. *S Afr Med J*. 41: 1271-4, 1967.
- BARRETT-CONNOR EL, COHN BA, WINGARD DL, EDELSTEIN SL: Why is diabetes mellitus a stronger risk factor for fatal ischemic heart disease in women than in men? The Rancho Bernardo Study. *JAMA*. 265: 627-31, 1991.
- BATRA S, RAKUŠAN K: Capillary network geometry during postnatal growth in rat hearts. *Am J Physiol* 262: H635-40, 1992.
- BAZZET H: An analysis of the time-relations of electrocardiogram. *Heart* 7: 353, 1920.
- BING RJ: Cardiac metabolism. *Physiol Rev* 45: 171-213, 1965.
- BELICHARD P, PRUNEAU D, ROCHETTE L: Influence of spontaneous hypertension and cardiac hypertrophy on the severity of ischemic arrhythmias in the rat. *Basic Res Cardiol* 83: 560-6, 1988.
- BEŠÍK J, SZÁRSZOI O, KUNEŠ J, NETUKA I, MALÝ J, KOLÁŘ F, PIRK J, OŠŤÁDAL B: Tolerance to acute ischemia in adult male and female spontaneously hypertensive rats. *Physiol Res*. 56(3): 267-74, 2007.
- BEŠÍK J, PIRK J, NETUKA I, SZARSZOI O, MALÝ J, OŠŤÁDAL B: Pohlavní rozdíly v perioperačním a pooperačním průběhu léčby u dospělých pacientů po náhradě stenotické aortální chlopně. *Cor Vasa* 51: 404-9, 2009.
- BEŠÍK J, SZARSZOI O, HEGAROVÁ M, KOŇAŘÍK M, SMETANA M, NETUKA I, PIRK J, MALÝ J: Non-Fontan Adult Congenital Heart Disease Transplantation Survival Is Equivalent to Acquired Heart Disease Transplantation Survival. *Ann Thorac Surg*. 101: 1768-73, 2016.
- BLANKSTEIN R, WARD RP, ARNSDORF M, JONES B, LOU YB, PINE M: Female gender is an independent predictor of operative mortality after coronary artery bypass graft surgery: contemporary analysis of 31 Midwestern hospitals. *Circulation*. 112: I323–7, 2005.
- BLOMKALNS AL, CHEN AY, HOCHMAN JS, PETERSON ED, TRYNOSKY K, DIERCKS DB, BROGAN GX JR, BODEN WE, ROE MT, OHMAN EM, GIBLER WB, NEWBY LK; CRUSADE Investigators: Gender disparities in the diagnosis and treatment of non-ST-segment elevation acute coronary syndromes: large-scale observations from the CRUSADE

- (Can Rapid Risk Stratification of Unstable Angina Patients Suppress Adverse Outcomes With Early Implementation of the American College of Cardiology/American Heart Association Guidelines) National Quality Improvement Initiative. *J Am Coll Cardiol.* 45: 832-7, 2005.
- BODDAERT J, MALLAT Z, FORNES P, ESPOSITO B, LECOMTE D, VERNY M, TEDGUI A, BELMIN J: Age and gender effects on apoptosis in the human coronary arterial wall. *Mech Ageing Dev.* 126(6-7): 678-84, 2005.
- BRANDRUP-WOGENSEN G, BERGGREN H, HARTFORD M, HJALMARSON A, KARLSSON T, HERLITZ J: Female sex is associated with increased mortality and morbidity early, but not late, after coronary artery bypass grafting. *Eur Heart J.* 17: 1426-31, 1996.
- BROWER GL, GARDNER JD, JANICKI JS: Gender mediated cardiac protection from adverse ventricular remodeling is abolished by ovariectomy. *Mol Cell Biochem* 251: 89-95, 2003.
- BROWN DA, CHICCO AJ, JEW KN, JOHNSON MS, LYNCH JM, WATSON PA, MOORE RL: Cardioprotection afforded by chronic exercise is mediated by the sarcolemmal, and not the mitochondrial, isoform of the KATP channel in the rat. *J Physiol* 569: 913–924, 2005.
- BRYAN CF, MITCHELL SI, BORKON AM, CURTIS J, DEMMY T, ESTEP TH, MORAN J: Influence of donor gender on patient mortality after heart transplantation. *Transplant Proc.* 28: 149-51, 1996.
- BURKE JH, GOLDBERGER JJ, EHLERT FA, KRUSE JT, PARKER MA, KADISH AH: Gender differences in heart rate before and after autonomic blockade: evidence against an intrinsic gender effect. *Am J Med.* 100(5): 537-43, 1996.
- BURKE JH, EHLERT FA, KRUSE JT, PARKER MA, GOLDBERGER JJ, KADISH AH: Gender-specific differences in the QT interval and the effect of autonomic tone and menstrual cycle in healthy adults. *Am J Cardiol.* 79(2): 178-81, 1997.
- BUTTRICK P, SCHEUER J: Sex-associated differences in left ventricular function in aortic stenosis of the elderly. *Circulation* 86: 1336-8, 1992.
- CAMPER-KIRBY D, WELCH S, WALKER A: Myocardial akt activation and gender: increased nuclear activity in females versus males. *Circ Res* 88: 1020-1027, 2001.
- CANTO JG, ROGERS WJ, GOLDBERG RJ, PETERSON ED, WENGER NK, VACCARINO V, KIEFE CI, FREDERICK PD, SOPKO G, ZHENG ZJ; NRMI Investigators: Association of age and sex with myocardial infarction symptom presentation and in-hospital mortality. *JAMA.* 307: 813-22, 2012.



- CAPASSO JM, REMILY RM, SMITH RH, SONNENBLICK EH: Sex differences in myocardial contractility in the rat. *Basic Res Cardiol.* 78(2): 156-71, 1983.
- CARREL A, GUTHRIE CC: The transplantation of veins and organs. *Am Med* 10: 1101-2, 1905.
- CAVASIN MA, TAO ZY, YU AL, YANG XP: Testosterone enhances early cardiac remodeling after myocardial infarction, causing rupture and degrading cardiac function. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 290(5): H2043-50, 2006.
- CERNY S, MOKRACEK A, POKORNA E, PIRK J, PAVEL P: Techniques, tactics and organizational aspects of distant procurement of donor hearts for transplantation. Experience at the Department of Cardiovascular and Transplantation Surgery of IKEM with 100 distant procurement of donor hearts. *Rozhl Chir.* 77: 165-70, 1998.
- CHALABREYSSE L, LEROUX C, OBADIA JF, GREENLAND T, THIVOLET-BEJUI F, MORNEX JF: Apoptosis in right-ventricle biopsy is not predictive of graft survival. *Transpl Int* 17: 362-5, 2004.
- CHEN JQ, YAGER JD, RUSSO J: Regulation of mitochondrial respiratory chain structure and function by estrogens / estrogen receptors and potential physiological / pathophysiological implications. *Biochem Biophys Acta.* 1746(1): 1-17, 2005.
- CHU SH, SUTHERLAND K, BECK J: Sex differences in expression of calcium-handling proteins and beta-adrenergic receptors in rat heart ventricle. *Life Sci* 76: 2735-2749, 2005.
- CLARKE M, BENNETT M, LITTLEWOOD T: Cell death in the cardiovascular system. *Heart.* 93: 659-64, 2007.
- CLARKE SJ, McSTAY GP, HALESTRAP AP: Sangliferin A acts as a potent inhibitor of the mitochondrial permeability transition and reperfusion injury of the heart by binding to cyclophilin-D at a different site from cyclosporine A. *J Biol Chem* 277: 34793-99, 2002.
- COLOM B, OLIVER J, ROCA P: Caloric restriction and gender modulate cardiac muscle mitochondrial H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production and oxidative damage. *Cardiovasc Res* 74: 456-465, 2007.
- CRAWFORD MH, Di MARCO JP: *Cardiology.* Mosby, London, 2001.
- D'ALESSANDRO C, AUBERT S, GOLMARD JL, PRASCHKER BL, LUYT CE, PAVIE A, GANDJBAKHCH I, LEPRINCE P: Extra-corporeal membrane oxygenation temporary support for early graft failure after cardiac transplantation. *Eur J Cardiothorac Surg* 37: 343-9, 2010.
- D'ANCONA G, SANTISE G, FALLETTA C, PIRONE F, SCIACCA S, TURRISI M, BIONDO D, PILATO M: Primary graft failure after heart transplantation: the importance of donor pharmacological management. *Transplant Proc.* 42: 710-2, 2010.

- DANIELSEN R: Left ventricular diastolic dysfunction in myocardial ischemia. Z Thygesen K, Kjekshus J (ed.): Myocardial ischaemia. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 162-172, 1991.
- DEL RIZZO DF, MENKIS AH, PFLUGFELDER PW, NOVICK RJ, MCKENZIE FN, BOYD WD, KOSTUK WJ: The role of donor age and ischemic time on survival following orthotopic heart transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 18: 310-9, 1999.
- DEY S, FLATHER MD, DEVLIN G, BRIEGER D, GURFINKEL EP, STEG PG, FITZGERALD G, JACKSON EA, EAGLE KA; Global Registry of Acute Coronary Events investigators: Sex-related differences in the presentation, treatment and outcomes among patients with acute coronary syndromes: the Global Registry of Acute Coronary Events. *Heart* 95: 20-6, 2009.
- DHALLA NS, WANG X, BEAMISH RE: Intracellular calcium handling in normal and failing hearts. *Exp Clin Cardiol* 1: 7-21, 1996.
- DI LISA F: A female way to protect the heart. Say NO to calcium. *Circ Res* 98: 298-300, 2006.
- DI LISA F, BERNARDI P: Mitochondrial function and myocardial aging. A critical analysis of the role of permeability transition. *Cardiovasc Res* 66: 222-232, 2006.
- DOMINIK J: Kardiokirurgie, Grada Publishing, Praha, 1998.
- DOUGLAS PS, KATZ SE, WEINBERG EO, CHEN MH, BISHOP SP, LORELL BH: Hypertrophic remodeling: gender differences in the early response to left ventricular pressure overload. *J Am Coll Cardiol* 32:1118-25, 1998.
- DOUST JA, PIETRZAK E, DOBSON A, GLASZIOU P: How well does B-type natriuretic peptide predict death and cardiac events in patients with heart failure: systematic review. *BMJ*. 330: 625, 2005.
- DUBEY RK, OPARIL S, IMTHURN B, JACKSON EK: Sex hormones and hypertension. *Cardiovasc Res*. 53: 688-708, 2002.
- DUWALL WL: Cardiovascular disease in women. *Mt Sinai J Med*. 70(5): 293-305, 2003.
- EDWARDS FH, CAREY JS, GROVER FL, BERO JW, HARTZ RS: Impact of gender on coronary bypass operative mortality. *Ann Thorac Surg*. 66: 125-31, 1998.
- ERDOGAN HB, KAYALAR N, ARDAL H, OMEROGU SN, KIRALI K, AKINCI E, YAKUT C: Risk factors for requirement of permanent pacemaker implantation after aortic valve replacement. *J Card Surg* 21: 211-215, 2006.
- FEJFAR Z: Prevention against ischaemic heart disease: a critical review. In: OLIVER MF (Ed.), *Modern trends in cardiology – 3*. London and Boston: Butterworths, 1975, p 465-499.

- FISCHER S, GLAS KE: A review of cardiac transplantation. *Anesthesiol Clin*. 31: 383-403, 2013.
- FRIEHS I, DEL NIDO PJ: Increased susceptibility of hypertrophied hearts to ischemic injury. *Ann Thorac Surg* 75: S678-84, 2003.
- GIANNITSIS E, KATUS HA: Troponins and high-sensitivity troponins as markers of necrosis in CAD and heart failure. *Herz* 34: 600-6, 2009.
- GLASER R, HERRMANN HC, MURPHY SA, DEMOPOULOS LA, DIBATTISTE PM, CANNON CP, BRAUNWALD E: Benefit of an early invasive management strategy in women with acute coronary syndromes. *JAMA*. 288: 3124-9, 2002.
- GOLDBERG RJ, STEG PG, SADIQ I, GRANGER CB, JACKSON EA, BUDAJ A, BRIEGER D, AVEZUM A, GOODMAN S: Extent of, and factors associated with, delay to hospital presentation in patients with acute coronary disease (the GRACE registry). *Am J Cardiol*. 89: 791-6, 2002.
- GOTTLIEB RA, BURLESON KO, KLONER RA, BABIOR BM, ENGLER RL: Reperfusion injury induces apoptosis in rabbit cardiomyocytes. *J Clin Invest*. 94: 1621-8, 1994.
- GRANDI AM, VENCO A, BARZIZZA F, SCALISE F, PANTALEO P, FINARDI G: Influence of age and sex on left ventricular anatomy and function in normals. *Cardiology* 81: 8-13, 1992.
- GULBINS H, ENNKER IC, MALKOC A, ENNKER JC: Female gender does not increase perioperative risk in coronary bypass surgery. *Thorac Cardiovasc Surg*. 58: 403-7, 2010.
- GURU V, FREMES SE, AUSTIN PC, BLACKSTONE EH, TU JV: Gender differences in outcomes after hospital discharge from coronary artery bypass grafting. *Circulation*. 113: 507-16, 2006.
- GURU V, FREMES SE, TU JV: Time-related mortality for women after coronary artery bypass graft surgery: a population-based study. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 127: 1158-65, 2004.
- HALESTRAP AP, CLARKE SJ, JAVADOV SA: Mitochondrial permeability transition pore opening during myocardial reperfusion – a target for cardioprotection. *Cardiovasc Res* 61: 372-385, 2004.
- HALESTRAP AP: What is the mitochondrial permeability transition pore? *J Mol Cell Cardiol*. 46: 821-31, 2009.
- HALESTRAP AP, RICHARDSON AP: The mitochondrial permeability transition: a current perspective on its identity and role in ischaemia/reperfusion injury. *J Mol Cell Cardiol*. 78: 129-41, 2015.

- HALVORSEN S, ERITSLAND J, ABDELNOOR M, HOLST HANSEN C, RISØE C, MIDTBØ K, BJØRNERHEIM R, MANGSCHAU A: Gender differences in management and outcome of acute myocardial infarctions treated in 2006-2007. *Cardiology*. 114: 83-8, 2009.
- HAN SH, BAE JH, HOLMES DR, LENNON RJ, EECKHOUT E, BARSNESS GW, RIHAL CS, LERMAN A: Sex differences in atheroma burden and endothelial function in patients with early coronary atherosclerosis. *Eur Heart J*. 29: 1359-69, 2008.
- HARDY JD, KURRUS FD, CHAVEZ CM, NEELY WA, ERASLAN S, TURNER MD, FABIAN LW, LABECKI TD: Heart transplantation in man. Developmental studies and report of a case. *JAMA* 188: 1132-40, 1964.
- HASSAN A, CHIASSON M, BUTH K, HIRSCH G: Women have worse long-term outcomes after coronary artery bypass grafting than men. *Can J Cardiol*. 21: 757-62, 2005.
- HAYASHI T, FUKUTO JM, IGNARRO LJ, CHAUDHURI G: Gender differences in atherosclerosis: possible role of nitric oxide. *J Cardiovasc Pharmacol*. 26: 792-802, 1995.
- HIMMELMANN A, SVENSSON A., HANSSON L: Influence of sex on blood pressure and left ventricular mass in adolescents: the Hypertension in Pregnancy Offspring Study. *J Human Hypertens* 8: 485-490, 1994.
- HINDERLITER AL, LIGHT KC, WILLIS PW: Gender differences in left ventricular structure and function in young adults with normal or marginally elevated blood pressure. *Am J Hypertens*. 5: 32-6, 1992.
- HULÍN I: Patofyziológia. Slovak Academic Press, Bratislava, 1998.
- HVELPLUND A, GALATIUS S, MADSEN M, RASMUSSEN JN, RASMUSSEN S, MADSEN JK, SAND NP, TILSTED HH, THAYSSSEN P, SINDBY E, HØJBJERG S, ABILDSTRØM SZ: Women with acute coronary syndrome are less invasively examined and subsequently less treated than men. *Eur Heart J*. 31: 684-90, 2010.
- IBRAHIM M, HENDRY P, MASTERS R, RUBENS F, LAM BK, RUEL M, DAVIES R, HADDAD H, VEINOT JP, MESANA T: Management of acute severe perioperative failure of cardiac allografts: a single-centre experience with a review of the literature. *Can J Cardiol* 23: 363-7, 2007.
- IMAHASHI K, LONDON RE, STEENBERGEN C, MURPHY E: Male/female differences in intracellular Na<sup>+</sup> regulation during ischemia/reperfusion in mouse heart. *J Mol Cell Cardiol* 37: 747-53, 2004.
- IYER A, KUMARASINGHE G, HICKS M, WATSON A, GAO L, DOYLE A, KEOGH A, KOTLYAR E, HAYWARD C, DHITAL K, GRANGER E, JANSZ P, PYE R, SPRATT P,

- MACDONALD PS: Primary graft failure after heart transplantation. *J Transplant* 175768, 2011.
- JACOBS AK, KELSEY SF, BROOKS MM, FAXON DP, CHAITMAN BR, BITTNER V, MOCK MB, WEINER BH, DEAN L, WINSTON C, DREW L, SOPKO G: Better outcome for women compared with men undergoing coronary revascularization: a report from the bypass angioplasty revascularization investigation (BARI). *Circulation*. 98: 1279-85, 1998.
- JAIN M, LIAO R, PODESSER BK, NGOY S, APSTEIN CS, EBERLI FR: Influence of gender on the response to hemodynamic overload after myocardial infarction. *Am J Physiol* 283: H2544-50, 2002.
- JANOTA T: Biochemical markers in the diagnosis of myocardial infarction. *Cor et Vasa* 56: e304–e310.
- JOHNSON MS, MOORE RL, BROWN DA: Sex differences in myocardial infarct size are abolished by sarcolemal  $K_{ATP}$  channel blockade in rat. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 290: H2644-7, 2006.
- KANNEL WB, SORLIE P, MCNAMARA PM: Prognosis after initial myocardial infarction: the Framingham study. *Am J Cardiol* 44: 53-9, 1979.
- KANNEL WB, ABBOTT RD: Incidence and prognosis of unrecognized myocardial infarction. An update on the Framingham study. *N Engl J Med*. 311: 1144-7, 1984.
- KASKI JC: Cardiac syndrome X in women: the role of oestrogen deficiency. *Heart*. 92: Suppl3:iii5-9, 2006.
- KARDYS I, Vliegenthart R, Oudkerk M, Hofman A, Witteman JC: The female advantage in cardiovascular disease: do vascular beds contribute equally? *Am J Epidemiol*. 166: 403-12, 2007.
- KARMAZYN M: The 1990 Merck Frosst award. Ischemic and reperfusion injury in the heart. Cellular mechanism and pharmacological interventions. *Can J Physiol* 69: 719-730, 1990.
- KATZ AM: Physiology of the Heart. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, 2001.
- KHAN SS, NESSIM S, GRAY R, CZER LS, CHAUX A, MATLOFF J: Increased mortality of women in coronary artery bypass surgery: evidence for referral bias. *Ann Intern Med*. 112: 561-7, 1990.
- KHUSH KK, MENZA RL, BABCOCK WD, ZAROFF JG: Donor cardiac troponin I levels do not predict recipient survival after cardiac transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 26: 1048-53, 2007.

- KHUSH KK, KUBO JT, DESAI M: Influence of donor and recipient sex mismatch on heart transplant outcomes: analysis of the International Society for Heart and Lung Transplantation Registry. *J Heart Lung Transplant*. 31: 459-66, 2012.
- KILIC A, WEISS ES, GEORGE TJ, ARNAOUTAKIS GJ, YUH DD, SHAH AS, CONTE JV: What predicts long-term survival after heart transplantation? An analysis of 9,400 ten-year survivors. *Ann Thorac Surg*. 93: 699-704, 2012.
- KITTLESON MM, SHEMIN R, PATEL JK, ARDEHALI A, KAWANO M, DAVIS S, MORIGUCHI JD, KOBASHIGAWA JA: Donor-recipient sex mismatch portends poor 10-year outcomes in a single-center experience. *J Heart Lung Transplant*. 30: 1018-22, 2011.
- KLIONSKY DJ, EMR SD: Autophagy as a regulated pathway of cellular degradation. *Science*. 290: 1717-21, 2000.
- KNAAPEN MW, DAVIES MJ, DE BIE M, HAVEN AJ, MARTINET W, KOCKX MM: Apoptotic versus autophagic cell death in heart failure. *Cardiovasc Res*. 51: 304-12, 2001.
- KOBASHIGAWA J, ZUCKERMANN A, MACDONALD P, LEPRINCE P, ESMAILIAN F, LUU M, MANCINI D, PATEL J, RAZI R, REICHENSPURNER H, RUSSELL S, SEGOVIA J, SMEDIRA N, STEHLIK J, WAGNER F; Consensus Conference participants: Report from a consensus conference on primary graft dysfunction after cardiac transplantation. *J Heart Lung Transplant* 33: 327-40, 2014.
- KONSTANTINOV IE: A Mystery of Vladimir P. Demikhov: The 50th Anniversary of the First Intrathoracic Transplantation. *Ann Thorac Surg* 65: 1171-7, 1998.
- KORNOWSKI R, LANSKY AJ, MINTZ GS, KENT KM, PICHARD AD, SATLER LF, BUCHER TA, POPMA JJ, LEON MB: Comparison of men versus women in cross-sectional area luminal narrowing, quantity of plaque, presence of calcium in plaque, and lumen location in coronary arteries by intravascular ultrasound in patients with stable angina pectoris. *Am J Cardiol*. 79: 1601-5, 1997.
- KOSTIN S, POOL L, ELSÄSSER A, HEIN S, DREXLER HC, ARNON E, HAYAKAWA Y, ZIMMERMANN R, BAUER E, KLÖVEKORN WP, SCHAPER J: Myocytes die by multiple mechanisms in failing human hearts. *Circ Res*. 92: 715-24, 2003.
- LAGRANHA CJ, DESCHAMPS A, APONTE A, STEENBERGEN C, MURPHY E: Sex differences in the phosphorylation of mitochondrial proteins result in reduced production of reactive oxygen species and cardioprotection in females. *Circ Res*. 106(11): 1681-91, 2010.
- LANGENDORFF O: Untersuchungen am überlebenden Säugetierherzen. *Pflugers Arch* 61: 291-332, 1895.

- LAWESSON SS, ALFREDSSON J, FREDRIKSON M, SWAHN E: Time trends in STEMI--improved treatment and outcome but still a gender gap: a prospective observational cohort study from the SWEDEHEART register. *BMJ Open* 2: e00072, 2012.
- LEBLANC N, CHARTIER D, GOSSELIN H, ROULEAU JL: Age and gender differences in excitation-contraction coupling of the rat ventricle. *J Physiol.* 511: 533-48, 1998.
- LEE TM, SU SF, TSAI CC, LEE YT, TSAI CH: Cardioprotective effects of 17 beta-estradiol produced by activation of mitochondrial ATP-sensitive K (+) Channels in canine hearts. *J Mol Cell Cardiol* 32: 1147-58, 2000.
- LESNEFSKY EJ, TANDLER B, YE J, SLABE TJ, TURKALY J, HOPPEL CL: Myocardial ischemia decreases oxidative phosphorylation through cytochrome oxidase in subsarcolemmal mitochondria. *Am J Physiol.* 273: H1544-54, 1997.
- LI G, LI G, XIAO Y, ESTRELLA JL, DUCSAY CA, GILBERT RD, ZHANG L: Effect of fetal hypoxia on heart susceptibility to ischemia and reperfusion injury in the adult rat. *J Soc Gynecol Investig.* 10: 265-74, 2003.
- LI Y, KLONER RA: Is there a gender difference in infarct size and arrhythmias following experimental coronary occlusion and reperfusion? *J Thromb Thrombolysis* 2: 221-225, 1995.
- LIMA B, RAJAGOPAL K, PETERSEN RP, SHAH AS, SOULE B, FELKER GM, ROGERS JG, LODGE AJ, MILANO CA: Marginal cardiac allografts do not have increased primary graft dysfunction in alternate list transplantation. *Circulation* 114: I27-32, 2006.
- LITTLE WC, APPLGATE RJ: Coronary angiography before myocardial infarction: can the culprit site be prospectively recognized? *Am Heart J.* 136: 368-70, 1998.
- LOWER RR, SHUMWAY NE: Studies on orthotopic homotransplantation of the canine heart. *Surg Forum* 11: 18-9, 1960.
- LUJAN HL, DICARLO SE: Sex differences to myocardial ischemia and beta-adrenergic receptor blockade in conscious rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 294(4): H1523-9, 2008.
- LUND LH, EDWARDS LB, KUCHERYAVAYA AY, BENDEN C, DIPCHAND AI, GOLDFARB S, LEVVEY BJ, MEISER B, ROSSANO JW, YUSEN RD, STEHLIK J: The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Thirty-second Official Adult Heart Transplantation Report--2015; Focus Theme: Early Graft Failure. *J Heart Lung Transplant.* 34(10): 1244-54, 2015.
- MA S, WANG Y, CHEN Y, CAO F: The role of the autophagy in myocardial ischemia/reperfusion injury. *Biochim Biophys Acta.* 1852: 271-6, 2015.

- MAJNO G, JORIS I: Apoptosis, oncosis, and necrosis. An overview of cell death. *Am J Pathol.* 146: 3-15, 1995.
- MÁLEK I: Indikace k transplantaci srdce. *Cor Vasa* 35: 240-2, 1993.
- MALLAT Z, FORNES P, COSTAGLIOLA R, ESPOSITO B, BELMIN J, LECOMTE D, TEDGUI A: Age and gender effects on cardiomyocyte apoptosis in the normal human heart. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 56(11): M719-23, 2001.
- MARASCO SF, KRAS A, SCHULBERG E, VALE M, LEE GA: Impact of warm ischemia time on survival after heart transplantation. *Transplant Proc* 44: 1385-9, 2012.
- MARZILLI M, MORRONE D, GUARINI G: Postconditioning. *Heart Metab* 50: 20-24, 2005.
- MATHUR P, OSTADAL B, ROMEO F, MEHTA JL: Gender-Related Differences in Atherosclerosis. *Cardiovasc Drugs Ther.* 29: 319-27, 2015.
- MATSUI H, MACLENNAN DH, ALPERT NR, PERIASAMY M: Sarcoplasmic reticulum gene expression in pressure overload-induced cardiac hypertrophy in rabbit. *Am J Physiol* 268: C252-8, 1995.
- MCCARTHY JF, MCCARTHY PM, MASSAD MG, COOK DJ, SMEDIRA NG, KASIRAJAN V, GOORMASTIC M, HOERCHER K, YOUNG JB: Risk factors for death after heart transplantation: does a single-center experience correlate with multicenter registries? *Ann Thorac Surg.* 65: 1574-8, 1998.
- MCSWEENEY JC, CODY M, O'SULLIVAN P, ELBERSON K, MOSER DK, GARVIN BJ: Women's early warning symptoms of acute myocardial infarction. *Circulation.* 108: 2619-23, 2003.
- MEERSON FZ: The mechanism of compensatory hyperfunction and insufficiency of the heart. *Cor Vasa* 3: 161-177, 1961.
- MEHILLI J, KASTRATI A, DIRSCHINGER J, PACHE J, SEYFARTH M, BLASINI R, HALL D, NEUMANN FJ, SCHÖMIG A: Sex-based analysis of outcome in patients with acute myocardial infarction treated predominantly with percutaneous coronary intervention. *JAMA.* 287: 210-5, 2002.
- MILEROVÁ M, DRAHOTA Z, CHYTILOVÁ A, TAUCHMANOVÁ K, HOUŠTĚK J, OŠŤÁDAL B: Sex difference in the sensitivity of cardiac mitochondrial permeability transition pore to calcium load. *Mol Cell Biochem.* 412(1-2): 147-54, 2016.
- MOCANU MM, BAXTER GF, YELLON DM: Caspase inhibition and limitation of myocardial infarct size: protection against lethal reperfusion injury. *Br J Pharmacol.* 130: 197-200, 2000.



- MOHRI M, KOYANAGI M, EGASHIRA K, TAGAWA H, ICHIKI T, SHIMOKAWA H, TAKESHITA A: Angina pectoris caused by coronary microvascular spasm. *Lancet*. 351: 1165-9, 1998.
- MOTOVSKA Z, WIDIMSKY P, ASCHERMANN M; PRAGUE Study Group Investigators: The impact of gender on outcomes of patients with ST elevation myocardial infarction transported for percutaneous coronary intervention: analysis of the PRAGUE-1 and 2 studies. *Heart*. 94: e5, 2008.
- MUMMA BE, BAUMANN BM, DIERCKS DB, TAKAKUWA KM, CAMPBELL CF, SHOFER FS, CHANG AM, JONES MK, HOLLANDER JE: Sex bias in cardiovascular testing: the contribution of patient preference. *Ann Emerg Med*. 57: 551-560, 2011.
- MURPHY E: Estrogen signalling and cardiovascular disease. *Circ Res* 109:687-696, 2011.
- MURPHY E, STEENBERGER C: Gender-based differences in mechanisms of protection in myocardial ischemia-reperfusion injury. *Cardiovasc Res*. 75(3): 478-86, 2007.
- NETUKA I, SZARSZOI O, MALÝ J, BEŠÍK J, NECKÁŘ J, KOLÁŘ F, OŠŤÁDALOVÁ I, PIRK J, OŠŤÁDAL B: Effect of perinatal hypoxia on cardiac tolerance to acute ischemia in adult male and female rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 33: 714-719, 2006.
- NG VG, MORI K, COSTA RA, KISH M, MEHRAN R, URATA H, SAKU K, STONE GW, LANSKY AJ: Impact of gender on infarct size, ST-segment resolution, myocardial blush and clinical outcomes after primary stenting for acute myocardial infarction: Substudy from the EMERALD trial. *Int J Cardiol*. 207: 269-76, 2016.
- NODE K, KITAKAZE M, KOSAKA H, MINAMINO T, FUNAYA H, HORI M: Amelioration of ischemia and reperfusion-induced myocardial injury by 17 $\beta$ -estradiol: role of nitric oxide and calcium activated potassium channels. *Circulation* 96; 1953-1963, 1997.
- NORHEIM A, SEGADAL L: Relative survival after CABG surgery is poorer in women and in patients younger than 70 years at surgery. *Scand Cardiovasc J*. 45: 247-51, 2011.
- NUZZO A, ROSSI R, MODENA MG: Hypertension alone or related to the metabolic syndrome in postmenopausal women. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 8: 1541-1548, 2010.
- OKAMOTO K, AOKI K: Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. *Jpn Circ J* 27: 282-293, 1963.
- OKAMOTO K: Spontaneous hypertension in rats. *Int Rev Exp Pathol* 7: 227-270, 1969.
- OLIVETTI G, GIORDANO G, CORRADI D, MELISSARI M, LAGRASTA C, GAMBERT SR, ANVERSA P: Gender differences and aging: effects on the human heart. *J Am Coll Cardiol* 26(4): 1068-79, 1995.

- OŠŤÁDAL B, PROCHÁZKA J, PELOUCH V: Comparison of cardiopulmonary responses of male and female rats to intermittent high altitude hypoxia. *Physiol Bohemoslov* 33: 129-138, 1984.
- OŠŤÁDAL B, KOLÁŘ F: Experimentální modely hypoxie a ischemie myokardu. *Ceskoslov. Fyziol.* 37: 15-32, 1988.
- OŠŤÁDAL B, KOLÁŘ F: Cardiac Ischemia: From Injury to Protection. Kluwer, Boston, 1999.
- OŠŤÁDAL B, VÍZEK M: Patologická fyziologie srdce a cév. Karolinum, Praha, 2005.
- OŠŤÁDAL B: Pohlavní rozdíly a kardiovaskulární system; experimentální aspekty. *Postgrad Med*: mimořádná příloha, 6-13, 2008.
- OŠŤÁDAL B, NETUKA I, MALÝ J, BEŠÍK J, OŠŤÁDALOVÁ I: Gender differences in cardiac ischemic injury and protection – experimental aspects. *Exp Biol Med (Maywood)*, 234: 1011-19, 2009.
- OŠŤÁDAL B, OŠŤÁDAL P: Sex-based differences in cardiac ischaemic injury and protection: therapeutic implications. *Br J Pharmacol.* 171(3): 541-54, 2014.
- OTO T, EXCELL L, GRIFFITHS AP, LEVVEY BJ, BAILEY M, MARASCO S, MACDONALD P, SNELL GI: Association between primary graft dysfunction among lung, kidney and heart recipients from the same multiorgan donor. *Am J Transplant* 8: 2132-9, 2008.
- PATTERSON AJ, ZHANG L: Hypoxia and Fetal Heart Development. *Curr Mol Med.* 10: 653–666, 2010.
- PAVON N, MARTINEZ-ABUNDIS E, HERNANDEZ L, GALLARDO-PEREZ JC, ALVAREZ-DELGADO C, CERBON M, PEREZ-TORRES I, ARANDA A, CHAVEZ E: Sexual hormones: effects on cardiac and mitochondrial activity after ischemia-reperfusion in adult rats. Gender difference. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 132(1-2): 135-46, 2012.
- PENNA C, TULLIO F, MERLINO A, MORO F, RAIMONDO S, RASTALDO R, PERRELLI MG, MANCARDI D, PAGLIARO P: Postconditioning cardioprotection against infarct size and post-ischemic systolic dysfunction is influenced by gender. *Basic Res Cardiol.* 104(4): 390-402, 2009.
- PFEFFER JM, PFEFFER MA, FLETCHER P, FISHBEIN MC, BRAUNWALD E: Favorable effects of therapy on cardiac performance in spontaneously hypertensive rats. *Am. J. Physiol.* 242: H776-84, 1982.
- PIOT C, CROISILLE P, STAAT P, THIBAUT H, RIOUFOL G, MEWTON N, ELBELGHITI R, CUNG TT, BONNEFOY E, ANGOULVANT D, MACIA C, RACZKA F, SPORTOUCH

- C, GAHIDE G, FINET G, ANDRÉ-FOUËT X, REVEL D, KIRKORIAN G, MONASSIER JP, DERUMEAUX G, OVIZE M: Effect of cyclosporine on reperfusion injury in acute myocardial infarction. *N Engl J Med.* 359: 473-81, 2008.
- PIPER HM, GARCIA-DORADO D, OVIZE M: A fresh look at reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 38: 291-300, 1998.
- PIPER HM, KASSECKERT S, ABDALLAH Y: The sarcoplasmic reticulum as the primary target of reperfusion protection. *Cardiovasc Res.* 70: 170-3, 2006.
- PIRK J, MÁLEK I: Transplantace srdce. Karolinum, Praha, 2008.
- PIRO M, DELLA BONA R, ABBATE A, BIASUCCI LM, CREA F: Sex-related differences in myocardial remodeling. *J Am Coll Cardiol.* 55(11): 1057-65, 2010.
- POON S, GOODMAN SG, YAN RT, BUGIARDINI R, BIERMAN AS, EAGLE KA, JOHNSTON N, HUYNH T, GRONDIN FR, SCHENCK-GUSTAFSSON K, YAN AT: Bridging the gender gap: Insights from a contemporary analysis of sex-related differences in the treatment and outcomes of patients with acute coronary syndromes. *Am Heart J.* 163: 66-73, 2012.
- POTAPOV EV, IVANITSKAIA EA, LOEBE M, MÖCKEL M, MÜLLER C, SODIAN R, MEYER R, HETZER R: Value of cardiac troponin I and T for selection of heart donors and as predictors of early graft failure. *Transplantation.* 71: 1394-400, 2001.
- PRENDERGAST TW, FURUKAWA S, BEYER AJ 3RD, BROWNE BJ, EISEN HJ, JEEVANANDAM V: The role of gender in heart transplantation. *Ann Thorac Surg.* 65: 88-94, 1998.
- PRZYKLENEK K, OVIZE M, BAUER B, KLONER RA. Gender does not influence acute myocardial infarction in adult dogs. *Am Heart J* 129: 1108–1113, 1995.
- RADOVANOVIC D, ERNE P, URBAN P, BERTEL O, RICKLI H, GASPOZ JM; AMIS Plus Investigators. Gender differences in management and outcomes in patients with acute coronary syndromes: results on 20,290 patients from the AMIS Plus Registry. *Heart* 93: 1369-75, 2007.
- RANASINGHE AM, BONSER RS: Endocrine changes in brain death and transplantation. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 25: 799-812, 2011.
- RAUTAHARJU PM, ZHOU SH, WONG S, CALHOUN HP, BERENSON GS, PRINEAS R, DAVIGNON A: Sex differences in the evolution of the electrocardiographic QT interval with age. *Can J Cardiol.* 8: 690-5, 1992.

- RAUTAHARJU PM, MASON JW, AKIYAMA T: New age- and sex-specific criteria for QT prolongation based on rate correction formulas that minimize bias at the upper normal limits. *Int J Cardiol.* 174: 535-40, 2014.
- RECKELHOFF JF: Gender differences in the regulation of blood pressure. *Hypertension* 37: 1199–1208, 2001.
- REED RM, NETZER G, HUNSICKER L, MITCHELL BD, RAJAGOPAL K, SCHARF S, EBERLEIN M: Cardiac size and sex-matching in heart transplantation : size matters in matters of sex and the heart. *JACC Heart Fail.* 2: 73-83, 2014.
- REEVE JL, DUFFY AM, O'BRIEN T, SAMALI A: Don't lose heart--therapeutic value of apoptosis prevention in the treatment of cardiovascular disease. *J Cell Mol Med.* 9: 609-22, 2005.
- REIS SE, HOLUBKOV R, CONRAD SMITH AJ, KELSEY SF, SHARAF BL, REICHEK N, ROGERS WJ, MERZ CN, SOPKO G, PEPINE CJ: Coronary microvascular dysfunction is highly prevalent in women with chest pain in the absence of coronary artery disease: results from the NHLBI WISE study. *Am Heart J.* 141: 735-41, 2001.
- RICH-EDWARDS JW, MANSON JE, HENNEKENS CH, BURING JE: The primary prevention of coronary heart disease in women. *N Engl J Med.* 332: 1758-1766, 1995.
- RIED M, HANEYA A, HOMANN T, KOLAT P, SCHMID C, DIEZ C: Female gender and the risk for death after cardiac surgery in septuagenarians and octogenarians: a retrospective observational study. *Gen Med.* 8: 252-60, 2011.
- ROGER VL, GO AS, LLOYD-JONES DM, ADAMS RJ, BERRY JD, BROWN TM a spol: Heart disease and stroke statistics--2011 update: a report from the American Heart Association. *Circulation.* 123: e18-e209, 2011.
- ROQUES F, NASHEF SA, MICHEL P, GAUDUCHEAU E, DE VINCENTIIS C, BAUDET E, CORTINA J, DAVID M, FAICHNEY A, GABRIELLE F, GAMS E, HARJULA A, JONES MT, PINTOR PP, SALAMON R, THULIN L: Risk factors and outcome in European cardiac surgery: analysis of the EuroSCORE multinational database of 19030 patients. *Eur J Cardiothorac Surg.* 15: 816-22, 1999.
- ROSAMOND W, FLEGAL K, FURIE K, GO A, GREENLUND K, HAASE N, HAILPERN SM, HO M, HOWARD V, KISSELA B, KITTNER S, LLOYD-JONES D, MCDERMOTT M, MEIGS J, MOY C, NICHOL G, O'DONELL C, ROGER V, SORLIE P, STEINBERGER J, THOM T, WILSON M, HONG Y; American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee: Heart disease and stroke statistics--2008 update: a report

- from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation*. 117: e25-146, 2008.
- ROSSOUW JE, ANDERSON GL, PRENTICE RL: Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results from the Women's Health Initiative randomized control trial. *Jama* 288: 321-333, 2002.
- ROTHENBURGER M, WICHTER T, SCHMID C, STYPMANN J, TJAN TD, BERENDES E, ETZ C, PIOUS A, LÖHER A, WENZELBURGER F, DREES G, HOFFMEIER A, BREITHARDT G, SCHELD HH: Aminoterminal pro type B natriuretic peptide as a predictive and prognostic marker in patients with chronic heart failure. *J Heart Lung Transplant*. 23: 1189-97, 2004.
- RUSSO MJ, IRIBARNE A, HONG KN, RAMLAWI B, CHEN JM, TAKAYAMA H, MANCINI DM, NAKA Y: Factors associated with primary graft failure after heart transplantation. *Transplantation* 90: 444-50, 2010.
- SANDLER H, DODGE HT: Left ventricular tension and stress in man. *Circ Res* 13: 91-104, 1963.
- SANGIORGI G, ROVERSI S, BIONDI ZOCCAI G, MODENA MG, SERVADEI F, IPPOLITI A, MAURIELLO A: Sex-related differences in carotid plaque features and inflammation. *J Vasc Surg*. 57: 338-44, 2015.
- SCHAIBLE TF, SCHEUER J: Comparison of heart function in male and female rats. *Basic Res Cardiol*. 79(4): 402-12, 1984.
- SCHAPER J, SCHWARZ F, FLAMENG W: Tolerance to ischemia in the human heart. *Recent Adv Stud Cardiac Struct Metab* 12: 513-7, 1976.
- SCHUNKERT H, DANSER AH, HENSE HW, DERKX FH, KURZINGER S, RIEGGER GA: Effects of estrogen replacement therapy on the renin-angiotensin system in postmenopausal women. *Circulation* 95: 39-45, 1997.
- SEGOVIA J, COSÍO MD, BARCELÓ JM, BUENO MG, PAVÍA PG, BURGOS R, SERRANO-FIZ S, GARCÍA-MONTERO C, CASTEDO E, UGARTE J, ALONSO-PULPÓN L: RADIAL: a novel primary graft failure risk score in heart transplantation. *J Heart Lung Transplant* 30: 644-51, 2011.
- SESHADRI N, WHITLOW PL, ACHARYA N, HOUGHTALING P, BLACKSTONE EH, ELLIS SG: Emergency coronary artery bypass surgery in the contemporary percutaneous coronary intervention era. *Circulation*. 106: 2346-50, 2002.

- SHAH AS, GRIFFITHS M, LEE KK, MCALLISTER DA, HUNTER AL, FERRY AV, CRUIKSHANK A, REID A, STODDART M, STRACHAN F, WALKER S, COLLINSON PO, APPLE FS, GRAY AJ, FOX KA, NEWBY DE, MILLS NL: High sensitivity cardiac troponin and the under-diagnosis of myocardial infarction in women: prospective cohort study. *BMJ*. 350: g7873, 2015.
- SCIRICA BM, MOLITERNO DJ, EVERY NR, ANDERSON HV, AGUIRRE FV, GRANGER CB, LAMBREW CT, RABBANI LE, ARNOLD A, SAPP SK, BOOTH JE, FERGUSON JJ, CANNON CP: Differences between men and women in the management of unstable angina pectoris (The GUARANTEE Registry). The GUARANTEE Investigators. *Am J Cardiol*. 84: 1145-50, 1999.
- SLUIJTER JP, CONDORELLI G, DAVIDSON SM, ENGEL FB, FERDINANDY P, HAUSENLOY DJ, LECOUR S, MADONNA R, OVIZE M, RUIZ-MEANA M, SCHULZ R, VAN LAAKE; Nucleus of the European Society of Cardiology Working Group Cellular Biology of the Heart: Novel therapeutic strategies for cardioprotection. *Pharmacol Ther*. 144(1): 60-70, 2014.
- SMETANA P, BATCHVAROV VN, HNATKOVA K, CAMM AJ, MALIK M: Ventricular gradient and nondipolar repolarization components increase at higher heart rate. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 286: H131-6, 2004.
- SMITH M: Physiologic changes during brain stem death--lessons for management of the organ donor. *J Heart Lung Transplant*. 23: S217-22, 2004.
- SNOECKX LH, VAN DER VUSSE GJ, VAN DER VEEN FH, COUMANS WA, RENEMAN R: Recovery of hypertrophied rat hearts after global ischemia and reperfusion at different perfusion pressures. *Pflugers Arch* 413: 303-12, 1989.
- STRAMBA-BADIALE M, LOCATI EH, MARTINELLI A, COURVILLE J, SCHWARTZ PJ: Gender and the relationship between ventricular repolarization and cardiac cycle length during 24-h Holter recordings. *Eur Heart J*. 18: 1000-6, 1997.
- SOLIMENE MC: Coronary heart disease in women: a challenge for the 21st century. *Clinics (Sao Paulo)* 65: 99-106, 2010.
- SOLOMON NA, MCGIVEN JR, ALISON PM, RUYGROK PN, HAYDOCK DA, COVERDALE HA, WEST TM: Changing donor and recipient demographics in a heart transplantation program: influence on early outcome. *Ann Thorac Surg* 77: 2096-102, 2004.
- STEHLIK J, EDWARDS LB, KUCHERYAVAYA AY, BENDEN C, CHRISTIE JD, DIPCHAND AI, DOBBELS F, KIRK R, RAHMEL AO, HERTZ MI: The Registry of the

- International Society for Heart and Lung Transplantation: 29th official adult heart transplant report - 2012. *J Heart Lung Transplant*. 31: 1052-64, 2012.
- STOICA SC, SATCHITHANANDA DK, ATKINSON C, CHARMAN S, GODDARD M, LARGE SR. Heat shock protein, inducible nitric oxide synthase and apoptotic markers in the acute phase of human cardiac transplantation. *Eur J Cardiothorac Surg* 24: 932-9, 2003.
- SUN H, MOHRI M, SHIMOKAWA H, USUI M, URAKAMI L, TAKESHITA A: Coronary microvascular spasm causes myocardial ischemia in patients with vasospastic angina. *J Am Coll Cardiol*. 39: 847-51, 2002.
- SUN J, PICT E, GINSBURG KS, BERS DM, STEENBERGEN C, MURPHY E: Hypercontractile female hearts exhibit increased S-nitrosylation of the L-type Ca<sup>2+</sup> channel alpha 1 subunit and reduced ischemia/reperfusion injury. *Circ Res* 98: 403-11, 2006.
- SZARSZOI O, BESIK J, SMETANA M, MALY J, URBAN M, MALUSKOVA J, LODEREROVA A, HOSKOVA L, TUCANOVA Z, PIRK J, NETUKA I: Biomarkers of cellular apoptosis and necrosis in donor myocardium are not predictive of primary graft dysfunction. *Physiol. Res*. 65: 251-257, 2016.
- ŠTEJFA M: Kardiologie. Grada Publishing, Praha, 1998.
- TAMURA T, SAID S, GERDES AM: Gender-related differences in myocyte remodeling in progression to heart failure. *Hypertension* 33: 676-80, 1999.
- TAN YC, SINCLAIR H, GHOORAH K, TEOH X, MEHRAN R, KUNADIAN V: Gender differences in outcomes in patients with acute coronary syndrome in the current era: A review. *Eur Heart J Acute Cardiovasc Care*. 2015. Oct 8. pii: 2048872615610886.
- TAYLOR DO, EDWARDS LB, BOUCEK MM, TRULOCK EP, KECK BM, HERTZ MI: The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: twenty-first official adult heart transplant report--2004. *J Heart Lung Transplant*. 23: 796-803, 2004.
- TOMÁŠEK A, JANOUŠEK S, ADÁMKOVÁ R, TUMOVÁ, ČERMÁKOVÁ J, ŠPINAR J: Srovnání rozdílů mezi muži a ženami u akutního infarktu myokardu. *Kardiol Rev* 10: 96-101, 2008.
- TOUMPOULIS IK, ANAGNOSTOPOULOS CE, BALARAM SK, ROKKAS CK, SWISTEL DG, ASHTON RC, DEROSE JJ: Assessment of independent predictors for long-term mortality between women and men after coronary artery bypass grafting: are women different from men? *J Thorac Cardiovasc Surg*. 131: 343-51, 2006.
- TSAI FC, MARELLI D, BRESSON J, GJERTSON D, KERMANI R, ARDEHALI A, ESMAILIAN F, HAMILTON M, FONAROW GC, MORIGUCHI J, PLUNKETT M, HAGE

- A, TRAN J, KOBASHIGAWA JA, LAKS H: Recent trends in early outcome of adult patients after heart transplantation: a single-institution review of 251 transplants using standard donor organs. *Am J Transplant.* 2: 539-45, 2002.
- TUREK Z, RAKUŠAN K: Lognormal distribution of intercapillary distance in normal and hypertrophic rat heart as estimated by the method of concentric circles: its effect on tissue oxygenation. *Pflugers Arch* 391: 17-21, 1981.
- VACCARINO V, KRUMHOLZ HM, BERKMAN LF, HORWITZ RI: Sex differences in mortality after myocardial infarction. Is there evidence for an increased risk for women? *Circulation* 91: 1861-71, 1995.
- VACCARINO V, ABRAMSON JL, VELEDAR E, WEINTRAUB WS: Sex differences in hospital mortality after coronary artery bypass surgery: evidence for a higher mortality in younger women. *Circulation.* 105: 1176–81, 2002.
- VANDEN HOEK TL, LI C, SHAO Z, SCHUMACKER PT, BECKER LB: Significant levels of oxidants are generated by isolated cardiomyocytes during ischemia prior to reperfusion. *J Mol Cell Cardiol.* 29: 2571-83, 1997.
- VELDERS MA, BODEN H, VAN BOVEN AJ, VAN DER HOEVEN BL, HEESTERMANS AA, CANNegiETER SC, UMANS VA, JUKEMA JW, HOFMA SH, SCHALIJ MJ: Influence of gender on ischemic times and outcomes after ST-elevation myocardial infarction. *Am J Cardiol.* 111: 312-8, 2013.
- VENKATESWARAN RV, STEEDS RP, QUINN DW, NIGHTINGALE P, WILSON IC, MASCARO JG, THOMPSON RD, TOWNEND JN, BONSER RS: The haemodynamic effects of adjunctive hormone therapy in potential heart donors: a prospective randomized double-blind factorially designed controlled trial. *Eur Heart J.* 30: 1771-80, 2009.
- VENOGUPAL V, LUDMAN, YELLON DM, HAUSENLOY DJ: 'Conditioning' the heart during surgery. *Eur J Cardiothorac Surg.* 35(6): 977-87, 2009.
- VILLAREAL RP, WOODRUFF AL, MASSUMI A: Gender and cardiac arrhythmias. *Tex Heart Inst J* 28(4): 265-275, 2001.
- VILLARI B, CAMPBELL SE, SCHNEIDER J, VASSALLI G, CHIARIELLO M, HESS OM: Sex-dependent differences in left ventricular function and structure in chronic pressure overload. *Eur Heart J.*, 16(10): 1410-9, 1995.
- WALKER MJ, CURTIS MJ, HEARSE DJ, CAMPBELL RW, JANSE MJ, YELLON DM, COBBE SM, COKER SJ, HARNESS JB, HARRON DW: The Lambeth Conventions:



- guidelines for the study of arrhythmias in ischaemia, infarction, and reperfusion. *Cardiovasc Res.* 22: 447-455, 1998.
- WANG M, CRISOSTOMO P, WAIRIUKO GM, MELDRUM DR: Estrogen receptor alpha mediates acute myocardial protection in females. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 290: H2204-9, 2006.
- WEINBERG EO, THIENELT CD, KATZ SE, BARTUNEK J, TAJIMA M, ROHRBACH S, DOUGLAS PS, LORELL B: Gender differences in molecular remodeling in pressure overload hypertrophy. *J Am Coll Cardiol* 34: 264-73, 1999.
- WEISS ES, Allen JG, Patel ND, Russell SD, Baumgartner WA, Shah AS, Conte JV: The impact of donor-recipient sex matching on survival after orthotopic heart transplantation: analysis of 18 000 transplants in the modern era. *Circ Heart Fail.* 2: 401-8, 2009.
- WIDIMSKÝ P, GREGOR P, HORÁK J, KMENT M, ANDĚL M: Vnitřní Lékařství II. Kardiologie, Universita Karlova, Praha, 1994.
- WILSON TA, NICOLOSI RJ, LAWTON CW, BABIAK J: Gender differences in response to a hypercholesterolemic diet in hamsters: effects on plasma lipoprotein cholesterol concentrations and early aortic atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 146: 83-91, 1999.
- WITT H, SCHUBERT C, JAEKEL J, FLIEGNER D, PENKALLA A, TIEMANN K, STYPMANN J, ROEPKE S, BROKAT S, MAHMOODZADEH S, BROZOVA E, DAVIDSON MM, NOPPINGER PR, GROHE CH, REGITZ-ZAGROSEK V: Sex specific pathways in early cardiac response to pressure overload in mice. *J Mol Med* 86: 1013-1024, 2008.
- WOODFIELD SL, LUNDERGAN CF, REINER JS, THOMPSON MA, ROHRBECK SC, DEYCHAK Y, SMITH JO, BURTON JR, MCCARTHY WF, CALIFF RM, WHITE HD, WEAVER WD, TOPOL EJ, ROSS AM: Gender and acute myocardial infarction: is there a different response to thrombolysis? *J Am Coll Cardiol* 29: 35-42, 1997.
- XU Y, ARENAS IA, ARMSTRONG SJ: Estrogen improves cardiac recovery after ischemia/reperfusion by decreasing tumor necrosis factor alpha. *Cardiovasc Res* 69: 836-844, 2006.
- YAHAGI K, DAVIS HR, ARBUSTINI E, VIRMANI R: Sex differences in coronary artery disease: pathological observations. *Atherosclerosis.* 239: 260-7, 2015.
- YTREHUS K: Free oxygen radicals during acute myocardial infarction. Z Thygesen K, Kjekhus J (ed.): Myocardial ischaemia. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 94-108, 1991.

- YU H, ZHAO W, FAN H, XU Q, MIAO Z: Evaluation of serum troponin T measurement in acute myocardial infarction. *Chin Med J (Engl)*. 108: 501-5, 1995.
- ZEIER M, DÖHLER B, OPELZ G, RITZ E: The effect of donor gender on graft survival. *J Am Soc Nephrol*. 13: 2570-6, 2002.
- ZHANG XP, VATNER SF, SHEN YT: Increased apoptosis and myocyte enlargement with decreased cardiac mass, distinctive features of the aging male, but not female, monkey heart. *J Mol Cell Cardiol* 43: 487-491, 2007.

## 8. PŘÍLOHY

1. BEŠÍK J, SZÁRSZOI O, KUNEŠ J, NETUKA I, MALÝ J, KOLÁŘ F, PIRK J, OŠŤÁDAL B: Tolerance to acute ischemia in adult male and female spontaneously hypertensive rats. *Physiol Res.* 56: 267-74, 2007.
2. NETUKA I, SZÁRSZOI O, MALÝ J, BEŠÍK J, NECKÁŘ J, KOLÁŘ F, OŠŤÁDALOVÁ I, PIRK J, OŠŤÁDAL B: Effect of perinatal hypoxia on cardiac tolerance to acute ischemia in adult male and female rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 33: 714-719, 2006.
3. BEŠÍK J, PIRK J, NETUKA I, SZÁRSZOI O, MALÝ J, OŠŤÁDAL B: Pohlavní rozdíly v perioperačním a pooperačním průběhu léčby u dospělých pacientů po náhradě stenotické aortální chlopně. *Cor Vasa* 51: 404-9, 2009.
4. SZÁRSZOI O, BEŠÍK J, SMETANA M, MALÝ J, URBAN M, MALUŠKOVÁ J, LODEREROVÁ A, HOŠKOVÁ L, TUČANOVÁ Z, PIRK J, NETUKA I: Biomarkers of cellular apoptosis and necrosis in donor myocardium are not predictive of primary graft dysfunction. *Physiol. Res.* 65: 251-257, 2016.
5. SMETANA M, BEŠÍK J, NETUKA I, MALÝ J, MALUŠKOVÁ J, LODEREROVÁ A, HOŠKOVÁ L, FRANEKOVÁ J, POKORNÁ E, PIRK J, SZÁRSZOI O: Sensitivity to perioperative ischemia/reperfusion injury in male and female donor myocardium. *In press.*
6. BEŠÍK J, SZÁRSZOI O, HEGAROVÁ M, KOŇAŘÍK M, SMETANA M, NETUKA I, PIRK J, MALÝ J: Non-Fontan Adult Congenital Heart Disease Transplantation Survival Is Equivalent to Acquired Heart Disease Transplantation Survival. *Ann Thorac Surg.* 101: 1768-73, 2016.