

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

**PORUCHY METABOLISMU GLYCIDŮ
ZPŮSOBENÉ POSTIŽENÍM CNS
A JEJICH FARMAKOLOGICKÉ
OVLIVNĚNÍ**

DISERTAČNÍ PRÁCE

OBOR: FARMAKOLOGIE

Školitel: Doc. RNDr. Vladimír Semecký, CSc.
Školitel specialista: Doc. MUDr. PhDr. Věroslav Golda, CSc.

Hradec Králové, 2005

Mgr. Zdenka Kudláčková



Obsah

1. ÚVOD	3
2. CÍL PRÁCE	6
3. TEORETICKÁ ČÁST	8
3.1. Anatomie mozkového cévního zásobení	9
3.2. Fyziologie mozkového cévního zásobení	10
3.2.1. Regulace cerebrální cirkulace	10
3.2.1.1. Autoregulace mozkového průtoku	11
3.2.1.2. Chemicko-metabolická regulace mozkového průtoku	11
3.2.1.3. Neurogení kontrola mozkového průtoku	12
3.2.1.4. Další faktory	12
3.2.2. Hematoencefalická bariéra	14
3.2.2.1. Morfologický podklad hematoencefalické bariéry	15
3.2.2.2. Transportní mechanismy hematoencefalické bariéry	16
3.3. Množství nečistoty	18
3.3.1. Procento v krvi	18
3.3.2. Procento ve mozku u lidí	18
3.3.3. Diferenční podstaty	19
3.3.4. Diferenční podstaty v centru a periferních částech	20
3.3.5. Množství nečistoty	21
3.3.6. Fyziologická hematoencefalická bariéra při nečistotě	21
3.3.7. Úloha v mozkových ložiscích	22
3.4. Glukóza	23
3.4.1. Regulace glukózy	23
3.4.2. Křivka glukózy - závislost závislosti rychlosti - křivka	23
3.4.3. Úloha glukózy v mozku	23
3.4.4. Úloha glukózy v mozku - závislost závislosti rychlosti - křivka	23
3.4.5. Úloha glukózy v mozku - závislost závislosti rychlosti - křivka	23
3.5. Množství nečistoty	25
3.5.1. Úloha glukózy	25
3.5.2. Úloha glukózy v mozku	25
3.5.3. Úloha glukózy v mozku	25

Tato práce vznikla také zásluhou rad, pomoci a připomínek, které mi poskytli: Doc. RNDr. **Vladimír Semecký**, CSc., Doc. MUDr. PhDr. **Věroslav Golda**, CSc., Doc. RNDr. PhMr. **Libuše Kopáčová**, CSc., Doc. PharmDr. **František Štaud**, Ph.D., PharmDr. **Petr Pávek**, Ph.D., PharmDr. **Petr Jílek**, CSc., Doc. RNDr. **Vladimír Buchta**, CSc., PharmDr. **Miloslav Hronek**, Ph.D., Mgr. **Věra Klemerová**, MUDr. **Miroslav Antal**, **Lenka Peterková**, **Dagmar Ježková**, **Hana Jeřábková**, **Silvia Pešová** a další spolupracovníci, kterým bych tímto chtěla poděkovat.

Poděkování rovněž patří mé rodině, která mě po celou dobu studia podporovala.

Obsah

1. ÚVOD.....	3
2. CÍL PRÁCE.....	6
3. TEORETICKÁ ČÁST.....	8
3.1. Anatomie mozkového cévního zásobení.....	9
3.2. Fyziologie mozkového cévního zásobení.....	10
3.2.1. Regulace cerebrální cirkulace.....	10
3.2.1.1. Autoregulace mozkového průtoku.....	11
3.2.1.2. Chemicko-metabolická regulace mozkového průtoku.....	11
3.2.1.3. Neurogení kontrola mozkového průtoku.....	13
3.2.1.4. Další faktory.....	13
3.2.2. Hematoencefalická bariéra.....	14
3.2.2.1. Morfologický podklad hematoencefalické bariéry.....	15
3.2.2.2. Transportní mechanismy hematoencefalické bariéry.....	16
3.3. Mozkové ischemie.....	18
3.3.1. Patogeneze ischemie.....	18
3.3.1.1. Vliv ischemie na neuron a glii.....	18
3.3.1.2. Ischemický polostín.....	19
3.3.1.3. Tkáňové změny v centru ischemického ložiska.....	20
3.3.1.4. Mozková diaschiza.....	22
3.3.1.5. Porucha hematoencefalické bariéry při ischemii.....	23
3.3.1.6. Edém u mozkových ischemií.....	25
3.4. Glykémie.....	29
3.4.1. Regulace glykémie.....	29
3.4.2. Hladina glykémie - ukazatel závažnosti ischemického poškození mozku.....	32
3.4.2.1. Studie provedené na laboratorních modelech.....	33
3.4.2.2. Klinické studie.....	38
3.4.3. Přehled hypotéz vysvětlujících mechanismus vzniku poškození mozku působením hyperglykémie při hypoxicko-ischemickém poškození mozku.....	43
3.5. Námelové alkaloidy.....	45
3.5.1. Charakteristika.....	45
3.5.2. Historie námelových alkaloidů.....	46
3.5.3. Účinky námelových alkaloidů.....	47
3.5.3.1. Interakce s 5-HT receptory.....	49
3.5.3.2. Interakce s dopaminergními receptory.....	55
3.5.3.3. Interakce s adrenoreceptory.....	57
3.5.3.4. Antimikrobiální a protinádorový účinek námelových alkaloidů a jejich derivátů.....	58
3.5.3.5. Vliv námelových alkaloidů na imunitní systém.....	61
3.5.3.6. Cílové orgány při použití námelových alkaloidů.....	67
3.5.3.7. Klinická farmakologie námelových alkaloidů.....	68
3.5.4. Tergurid.....	73
4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	76
4.1. Materiál a metody.....	77
4.1.1. Experimentální kmene zvířat.....	77
4.1.2. Pomůcky a přístroje.....	81
4.1.3. Farmaka, roztoky a činidla.....	81
4.1.4. Experimentální model.....	81
4.1.5. Metody.....	82
4.1.6. Zpracování a zaznamenávání dat a výsledků.....	83

4.2. Použité programy pro statistické zpracování výsledků.....	83
4.3. Výsledky	84
4.3.1. Grafické znázornění výsledků a jejich komentář	85
4.3.1.1. Vliv oligemické hypoxie mozku na hladinu krevní glukosy.....	85
4.3.1.2. Vliv terguridu na hladinu krevní glukosy u zvířat kmene Wistar	114
4.3.1.3. Vliv terguridu na hladinu krevní glukosy u kmene Koletského typu.....	129
4.3.1.4. Vliv terguridu na podíl vody v mozku u obou kmenů zvířat	148
4.3.2. Úmrtnost zvířat	167
4.3.2.1. Úmrtnost zvířat kmene Wistar	167
4.3.2.2. Úmrtnost zvířat Koletského typu	167
5. DISKUSE	168
6. ZÁVĚR	190
7. SOUHRN	192
8. LITERATURA	194
9. PUBLIKAČNÍ ČINNOST.....	208

1. Úvod

Tématem této práce bylo sledování vlivu terguridu na glycidové abnormality navozené ischemií mozku u laboratorních potkanů kmene Wistar a u potkanů Koletského typu.

Experimentální část této práce byla provedena v Ústavu experimentální neurochirurgie, který byl založen při neurochirurgické klinice fakultní nemocnice v Hradci Králové v roce 1971. Pracoviště se zabývalo zkoumáním nervového systému na modelovém organismu laboratorního potkana kmene Wistar a od roku 1975 také na geneticky hypertenzivních potkanech Koletského typu, které získal doc. MUDr. PhDr. Věroslav Golda, CSc. od Carla Hansena z Národního ústavu zdraví (Bethesda, USA).

Během výzkumu byly v jednotlivých obdobích sledovány např. změny prahů bolesti, bylo prováděno behaviorální testování obou kmenů zvířat apod.. V posledních letech se pracoviště zaměřilo na sledování poruch metabolismu, zejména na glycidové a lipidové abnormality a jejich farmakologické ovlivňování.

Delší období byly na tomto pracovišti testovány účinky námelových alkaloidů. Na počáteční zkoumání vlivu bromokriptinu a lisuridu navázalo testování derivátu kyseliny lysergové - terguridu (československý patent z roku 1986).

Začlenila jsem se do výzkumné práce ústavu v roce 1996, v době, kdy pozornost pracoviště byla zaměřena na poruchy metabolismu glycidů a jejich farmakologické ovlivnění. Model intolerance glycidů byl sestaven na základě poznatků klinické praxe, které potvrdily, že poškození mozku (jako je trauma mozku, mozkové cévní příhody, ischemie mozkové tkáně, krvácení do mozku, operační zákroky na mozku apod.) vyvolávají **hyperglykémii**. V důsledku této poruchy se rozvíjí sled dalších poruch jejichž výsledkem je poškození mozku, které vede nejprve k reverzibilním funkčním změnám, později k ireversibilním morfologickým poruchám s vážnými následky v oblasti morbidity a mortality. Závažnost následků závisí na vstupním poškození a včasném adekvátním terapeutickém zásahu, který spočívá v zajištění přísunu dostatečného množství kyslíku a živin do mozku a ve zvládnutí vzniklých poruch. Snahou našeho pracoviště i ostatních badatelů zabývajících se změnami poškozeného mozku je hledat vhodné **farmakologické postupy**, pomocí kterých je možno upravovat tyto glycidové abnormality a tím minimalizovat jeden z faktorů, který zhoršuje prognosu poškození mozku.

V teoretické části práce jsme uvedli hlavní proměnné, které souvisí se sledovanou problematikou. V samostatné kapitole jsme se věnovali fyziologii mozkového cévního zásobení, zejména regulaci cerebrální cirkulace a morfologickým

a funkčním charakteristikám hematoencefalické bariéry. V další části jsme se zaměřili na mozkovou ischemii. Zde jsme stručně popsali změny, které se odehrávají v ischemicky poškozené mozkové tkáni. V kapitole o glykémii jsme považovali za důležité zmínit hlavní principy regulace hladiny krevní glukosy. Podrobně jsme v této kapitole popsali vliv hladiny krevní glukosy na prognosu organismu s ischemicky poškozenou mozkovou tkáni. Teoretickou část pak uzavíráme kapitolou o námelových alkaloidech, kde podrobně charakterizujeme jejich účinky na 5-HT receptory, dopaminové receptory a adrenoreceptory. Popisujeme zde rovněž cílové orgány jejich působení a klinické užití námelových alkaloidů. Tuto část uzavíráme popisem a účinky terguridu (alkaloidu, který byl použit v našich experimentech).

Na počátku experimentální části práce popisujeme užití metody a postupy a další náležitosti práce. V kapitole o výsledcích uvádíme přehledně nalezená data včetně grafů a shrnujících tabulek. Tuto část uzavíráme přehledem úmrtnosti v jednotlivých skupinách zvířat.

Práci ukončujeme diskusí, závěrem s výsledky, souhrnem, přehledem použité literatury a publikační činnosti.

2. Cíl práce

V našich experimentech jsme zvolili dobře reprodukovatelné postižení mozku, tj. ischemii mozku, která jak u potkanů kmenu Wistar, tak u potkanů Koletského typu indukuje **intoleranci glukózy**. U obou kmenů jsme sledovali vliv **terguridu** na porušenou toleranci glukózy.

Cílem práce bylo najít odpovědi na tyto dílčí otázky:

1. Navodí ischemie mozku intoleranci glycidů ve všech sledovaných skupinách a ve všech věkových pásmech?
2. Snižuje tergurid hyperglykémii, způsobenou ischemií mozku, u normotenzivních samců a samic kmene Wistar?
3. Snižuje tergurid hyperglykémii, způsobenou ischemií mozku, u samců a samic Koletského typu?
4. Snižuje tergurid podíl vody v mozku u zvířat podrobených ischemii mozku?

3. Teoretická část

3.1. Anatomie mozkového cévního zásobení

Hlavním zdrojem cév pro mozek u člověka (Čihák 1997) jsou pravá a levá a. vertebralis a pravá a levá a. carotis interna, jež spolu s dalšími cévami vytvářejí circulus arteriosus cerebri (syn. Willis; funkcí tohoto tepenného okruhu je vyrovnávání tepových vln z a. vertebralis a z a. carotis interna a udržení rovnoměrného plnění všech tepen z okruhu vycházejících). A. carotis interna je větví a. carotis communis, která v oblasti krku nevysílá žádné větve. Laterálně od a. carotis communis jde v. jugularis interna (sbírá mimo jiné i krev z lebeční dutiny a z lebečních stěn). Obě cévy jsou ve vazivovém obalu – vagina carotica – spolu s cévami sestupují ve vagina carotica nervy: vpředu r. superior ansae cervicales, vzadu n. vagus. Celý útvar s cévami a nervy se označuje jako nervově-cévní svazek krční.

Podobně tomu je i u laboratorního potkana, kde hlavu a krk zásobuje krví pravá a levá společná krkavice (a. carotis communis dextra et sinistra). Pravá odstupuje spolu s pravou tepnou podklíčkovou z tepny bezejmenné (a. brachiocephalica s. innominata) v místě připojení kosti klíční ke kosti hrudní, kdežto levá odstupuje přímo ze srdečnicového oblouku. Obě krkavice se dělí na krkavici zevní a vnitřní.

Rovněž i u potkana nacházíme na spodině mozku tepenný věnec mozkový (circulus arteriosus cerebri syn. Willis), jehož začátek tvoří zadní tepna mozková (a. cerebri posterior). Zadní tepna mozková pochází z a. basilaris, jež vzniká splnutím obou tepen obratlových. (Nejedlý 1967) U potkana, na rozdíl od pískomilů, je vytvořen kompletní Willisův okruh, což při oboustranné okluzi a. carotis communis vede k inkompletní globální ischemii. (Kozler 2002)

Céva odvádějící krev z mozku je rovněž jako u člověka vnitřní žíla jařmová (v. jugularis interna), která v průběhu báze krku kříží krkavici. Vnitřní žíla jařmová odvádí žilní krev, která se v dutině lební hromadí v žilných kanálcích, jež se nazývají splavy lební (sinus venosi). Jsou uloženy v tvrdé pleně mozkové. Tvoří soustavu, jež se podle uložení dělí na horní (dorsální) a dolní (basální). U potkana nemá vnitřní žíla jařmová spojení s žílou lícní ani začelistní, jako je tomu u člověka. (Nejedlý 1967)

3.2. Fyziologie mozkového cévního zásobení

3.2.1. Regulace cerebrální cirkulace

Mozek jako orgán o extrémně vysoké biologické výkonnosti má mimořádné nároky na oxidační a metabolickou dodávku. U dospělého člověka uspokojuje tuto dodávku krevní průtok o hodnotě 50 – 60 ml/100 g tkáně/min, což pro mozek jako celek činí asi 750 ml/min. Při své hmotnosti, představující asi 2 % hmoty organismu, využívá tedy při tělesném klidu mozek dospělého přibližně 15 % minutového srdečního výdeje (50 % játra a ledviny, 16 % kosterní svalstvo, 5 % myokard, 8 % kůže, 6 % ostatní). U dětí je mohutnost mozkového průtoku téměř dvojnásobná, takže u nich připadá mozku skoro 40 % klidového srdečního výdeje. Mozek za klidových podmínek využívá 65 % celkové tělesné spotřeby glukózy. Velikost mozkového nutričního průtoku není konstantní a v závislosti na aktuální činnosti u zdravých osob podstatně převyšuje hodnoty nezbytné pro bazální metabolismus nervové tkáně. Tak může být většinou aktuální průtok redukován až o 30 - 50 %, aniž by vznikl neurologický deficit.

Pro zachování prosperující integrity individua je prvořadě důležité udržet optimální stav funkcí centrálního nervového systému. Regulace cévního průtoku mozkovým řečištěm se proto od poměrů v ostatním organismu liší – a to hlavně relativně menším funkčním významem adrenergní inervace cerebrálních cév.

Za všech extrémních okolností si mozek zachovává svůj normální krevní průtok preferenčně nedotčený. Při intenzivní svalové práci stoupá krevní průtok až 20 násobně a vynutí si 4 násobný vzestup srdečního minutového výdeje. Adekvátně se zvyšuje také 4x koronární průtok a svalstvo s myokardem pak spotřebovávají přes 85 % srdečního výdeje. Kompenzačně klesá průtok všemi ostatními orgány, avšak mozek si zachovává nepřetržitě svou standardní perfuzi 750 ml/min.

Komplexní systém řízení mozkového průtoku je možno si z didaktických důvodů uměle rozdělit na tři vzájemně spjaté komponenty: autoregulaci, chemicko-metabolickou kontrolu a neurogení kontrolu.

3.2.1.1. Autoregulace mozkového průtoku

Autoregulace je fyziologickou adaptací orgánu k udržení stabilního krevního průtoku při změnách perfuzního tlaku. Perfuzní mozkový tlak je diference mezi středním arteriálním krevním tlakem (aritmetický průměr systolického a diastolického tlaku) a tlakem intrakraniálních žil (který je prakticky identický s intrakraniálním tlakem a činí méně než 1 kPa). Perfuzní mozkový tlak představuje hnací sílu řečištěm. V rozmezí středního systémového arteriálního tlaku 8 – 20 kPa (60 – 150 torrů) se udržuje u normotenzivního jedince mozkový průtok konstantní: se stoupajícím středním arteriálním tlakem zvyšuje arteriolární řečiště svůj vasokonstrikční tonus, při klesajícím tlaku naopak uvolňuje vazodilatační reakcí vyšší příkon do mozkového parenchymu. Mimo uvedené rozmezí autoregulační mechanismus selhává. Pod úrovní 8 kPa (60 torr) není ani maximální dilatace s to umožnit dostatečný přítok a perfuze pak lineárně klesá, při vzestupu středního arteriálního tlaku nad 20 kPa (150 torr) nedokáže naopak ani maximální vasokonstrikční rezistence zabránit přesycení řečiště nadměrným krevním přítokem. Arteriální tlak pak proráží až do subarteriolárního řečiště, kde posléze deformuje kapilární gradienty na kapilární stěně s příslušnými důsledky v mozkovém intersticiu. Klinicky se tento stav projeví hypertenzní encefalopatií.

3.2.1.2. Chemicko – metabolická regulace mozkového průtoku

Největší autonomii a význam si tyto místní mechanismy podržely právě v mozku (rovněž i v srdci). Významný vliv na mohutnost krevního průtoku mají acidobazické výchylky mozkového intersticia. Hematoencefalická bariéra chrání tkáň proti akutní zátěži kyselinami i zásadami. Pro CO_2 je však volně prostupná a dovoluje rychlé vytvoření ekvilibria mezi pCO_2 krve a extracelulární tekutiny. Proto je také mozkové cévní řečiště unikátně senzitivní ke změnám pCO_2 , zatímco akutní změny samotného pH krve ovlivňují mozkový krevní průtok jen málo.

Mechanismy chemicko-metabolické kontroly krevního průtoku se odehrávají na úrovni kapilární a ve svalovině prekapilárních svěračů. Acidóza cévní stěny a intersticia vyvolává snížení periferní cévní rezistence. Vzniklá vasodilatace pak umožní zvýšení perfuze a odplavení kyselých tkáňových metabolitů. Mozková tkáň se tak přizpůsobuje nedostatku kyslíku (s následnou laktoacidózou) nebo nedostatku glukózy (s následnou ketoacidózou). Acidobazická rovnováha extracelulární tekutiny

závisí na poměru lokální koncentrace hydrogenuhličitanů k volně difuzibilním molekulám CO₂.

U mladých jedinců vyvolává inhalace 7% CO₂ ve vzduchu až 100% vzestup mozkového krevního průtoku. Se stoupajícím věkem mohutnost této odpovědi klesá. Regulace krevního toku hladinou CO₂ se děje pouze v rozmezí 2,7 - 9,3 kPa (20 – 70 torrů) parciálního tlaku CO₂. Pod a nad těmito hodnotami jsou další změny pCO₂ neúčinné, neboť mozkové cévy se nacházejí ve stavu kompletní vasokonstrikce nebo vasodilatace. Velikost této odpovědi je současně závislá na aktuální výši středního arteriálního tlaku.

Změny mozkového krevního průtoku jsou nejvýraznější v šedé hmotě mozkové kůry. Alterace arteriální hladiny CO₂ se projeví v adjustaci mozkového řečiště velmi rychle – během několika sekund. Kromě věku individua a přizpůsobení cévní tonu aktuálnímu střednímu arteriálnímu tlaku je cévní odpověď závislá ještě na dalších okolnostech: např. atropin snižuje odpověď na vzestup CO₂.

Účinky CO₂ na mozkový průtok jsou provázeny současně mírnou změnou mozkového krevního objemu. Pokles CO₂ v arteriální krvi o 1 kPa (7,5 torrů) vyvolá pokles mozkového krevního průtoku asi o 8 – 15 ml/100 g tkáně/min a pokles mozkového krevního obehmu o 0,32 ml/ g tkáně. Pro celý mozek představuje toto objemové zmenšení krevního kompartmentu asi 4 ml.

Méně jednotné jsou názory na vztah mozkového krevního průtoku k hladině kyslíku. **Arteriální tenze kyslíku** má vliv komplikovanější, vliv s velkou pravděpodobností zprostředkovaný přes další metabolické účinky. Účinnost je relativně malá. Při klesání paO₂ nebyl pozorován žádný efekt na mozkovou cirkulaci až k hodnotě paO₂ 6,66 kPa (50 torr), resp. až k hodnotě venózního parciálního tlaku pvO₂ 3,73 kPa (28 torr). Sledování pO₂ ve venózní krvi je zde významnější, neboť klesající přísun arteriálního kyslíku kompenzuje tkáň dlouho zvýšenou extrakcí O₂ ve tkáni. Teprve snížení pvO₂ signalizuje okamžik, kdy se tkáň dostala mimo limity své extrakční přizpůsobivosti.

Ochrana mozkového parenchymu při progresivním snižování arteriální tenze kyslíku jeho zvýšenou extrakcí z krve způsobuje zvýšení arteriovenózní kyslíkové difference. Tento mechanismus uspívá právě asi k hodnotám nad 3 kPa (22,5 torr); překročení toho kritického prahu způsobuje již – v závislosti na trvání hypoxemie – poruchu funkce neuronů a glie a posléze i ireverzibilní změny strukturální.

Předpokládá se, že to není hladina kyslíku sama o sobě, která ovlivňuje mozkový krevní průtok, nýbrž že jsou to její metabolické důsledky. Tato metabolická hypotéza řízení mozkového průtoku za podmínek nedostatečné dodávky kyslíku předpokládá jako definitivní modulátor vazoregulačního tonu vodíkový iont. Koncentrace kyselého H^+ v perivaskulárním prostoru a v buňce hladkého svalu v cévní stěně stoupá při tkáňové hypoxii současně se zvýšenou produkcí laktátu a vyvolá vasodilataci.

Kromě účinků na koncentraci H^+ vyvolává tkáňová hypoxie také zvýšení hladin intersticiálního K^+ , Ca^{2+} a katecholaminů. Všechny tyto složky mohou být rovněž na regulaci cévního tonu účastny. Jedním z hlavních účastníků v ischemickém řetězci vazoregulační kontroly by mohl být adenosin, který je silným vazodilátorem a při hypoxii je v mozku zvýšen.

3.2.1.3. Neurogení kontrola mozkového průtoku

Tato kontrola hraje vzhledem k předchozím mechanismům roli doladující. Východiskem neurogení regulace jsou baroreceptory v aortálním oblouku a karotickém sinu. Stimulem jsou změny průměru cévy v této lokalizaci. Eferentace se děje sympatickými vegetativními vlákny, vedenými adventicií cévní stěny. Uplatňuje se jen za specifických podmínek. Mozkové kapiláry jsou zřejmě inervovány dalším katecholaminovým systémem, který vychází z locus coeruleus. Použitím imunohistochemických technik lze pozorovat na kapilárách noradrenergní nervové varikosity. Mimo to jsou známy kapilární adrenergní receptory. Tato kapilární sympatická inervace je pravděpodobně spoluzodpovědná za permeabilitu hematoencefalické bariéry. Přerušení této inervace zvyšuje pasáž albuminu z krevního kompartmentu do mozku a zvyšuje četnost petechiálního krvácení.

Celkově lze charakterizovat úlohu sympatických nervů jako ochranu mozku proti náhlým vzestupům systémového krevního tlaku.

3.2.1.4. Další faktory

Limitující okolností v regulaci cerebrovaskulárního průtoku je výše intrakraniálního tlaku. Uzavřený intrakraniální prostor vytváří specifické podmínky průtoku v okamžiku, kdy z jakýchkoliv příčin stoupne objem nitrolebečnických tkání

(např. při hemoragické apoplexii, růstem tumoru, nebo vznikem edému). Kapilární průtok může být omezen až zastaven.

Pokles mozkového krevního průtoku způsobují také zvýšená krevní viskozita a pokles teploty. Snížený hematokrit vyvolává naopak vzestup mozkového průtoku – zvýšení proudivosti hypocelulární krve. Anestetika ovlivňují hodnoty cerebrovaskulárního průtoku různým způsobem: inhalační narkotika většinou zvyšují průtok, intravenózní hypnotika krevní průtok snižují.

Mezi regulátory krevního průtoku v různých orgánech včetně mozku byly v posledních letech zařazeny také prostaglandiny. Mozková tkáň sama i její cévy jsou schopny produkovat řadu prostaglandinů a obsahují také prekurzor – kyselinu arachidonovou. Z kyseliny arachidonové vznikají jednak tromboxan, jednak prostacyklin, které mají vzájemně opačný účinek na cévní tonus. Tromboxan působí vasokonstrikčně, prostacyklin vasodilatačně. (Kalvach a kol. 1997)

3.2.2. Hematoencefalická bariéra

Hematoencefalická bariéra hraje primární roli v izolaci mozkového parenchymu a kontrole mozkové homeostázy selektivní permeabilitou živin a ostatních molekul prostupujících přes mozkové mikrokapiláry. (Copin, Gashe 2003) Hematoencefalická bariéra reguluje kinetiku přesunu látek z krve do tkáně CNS, z krve do mozkomíšního moku (likvoru), jakož i z likvoru do nervové tkáně. Tento termín ovšem zahrnuje i transport látek opačným směrem, tedy výstup látek z mozku do krve. (Trojan a kol. 2003)

U dospělého jedince je rozloha hematoencefalické bariéry asi 9 m². (Kalvach a kol. 1997)

Kromě hematoencefalické bariéry (krev – tkáň CNS), bývá definována bariéra hematolikvorová (krev – likvor), případně bariéra likvorocefalická (likvor – tkáň CNS).

Existenci specifické kinetiky přesunu celé řady látek mezi krevním oběhem a vlastní tkání CNS potvrzují mimo jiné značné rozdíly koncentrací těchto látek v krvi a likvoru. (Trojan a kol. 2003)

Pouze voda, CO₂ a O₂ přecházejí do mozku snadno. Obecně je rychlost pronikání látek do mozkové tkáně nepřímě úměrné velikosti jejich molekul a souvisí přímo s jejich rozpustností v tucích. Sloučeniny rozpustné ve vodě procházejí pomalu.

(Ganong 1995) Látky s molekulovou hmotností kolem a nad 60 000 mají tendenci zůstat v systémové cirkulaci. (Craig a kol. 2004) Existuje gradient koncentrací H^+ v mozku a krvi; pH mozku je 7,33, zatímco pH krve je 7,40. Endotelie mozkových kapilár mají obousměrné transportní systémy pro K^+ , organické aminokyseliny a glukózu. (Ganong 1995)

Hematoencefalická bariéra spolupodmiňuje využití glukózy jako preferenčního paliva mozkového metabolismu a vylučuje použití jiných potenciálních nutričních složek. Mezi sérovou koncentrací glukózy a hladinou v mozkomíšním moku je až do koncentrací kolem 8mmol/l (150mg/100 ml) přímá korelace. Další vzestup sérové glukózy už nemá vliv na její likvorovou hladinu. Tato saturace je výrazem specifického facilitovaného transportního systému hematoencefalické bariéry, který je založen na principu nosiče (carrier mediated). (Kalvach a kol. 1997)

Voda, CO_2 a O_2 prostupují hematoencefalickou bariérou rychleji než glukóza. Soli žlučových kyselin a katecholaminy přestupují v dospělosti do mozku jen v minimálním množství. Proteiny procházejí bariérou jen velmi omezeně. (Ganong 1995)

3.2.2.1. Morfologický podklad hematoencefalické bariéry

Bariéra hematoencefalická

Tento komplexní biologický systém obsahuje endoteliální buňky, pericyty a astrocyty. (Copin, Gashe 2003) Rozhodující morfologický podklad této bariéry tvoří především struktura mozkových kapilár, které se značně liší od ostatních kapilár systémových. Významnou roli pro bariéru hraje též organizace neuroglie.

Strukturální odlišnosti mozkových kapilár:

- a) Přítomnost pravých „tight junctions“ mezi endoteliálními buňkami kapilár.
- b) Absence fenestrací.
- c) Nízká aktivita transportních vezikulů a pinocytózy.
- d) Velmi těsný kontakt mezi výběžky astrocytů.

Základní funkční charakteristika hematoencefalické bariéry:

- a) Existence buněčné polarity a asymetrie ve funkci luminální a abluminální membrány.

- b) Téměř vyloučený prostup vysokomolekulárních roztoků hematoencefalickou bariérou.
- c) Význam transcelulární cesty pro nízkomolekulární roztoky.

Bariéra hematolikvorová

Morfologický podklad hematolikvorové bariéry je zcela odlišný.

- a) Kapiláry v plexus chorioideus jsou permeabilní.
 - endoteliální buňky kapilár této oblasti jsou propojeny kontakty typu gap junctions (větší permeabilita pro nízkomolekulární látky)
 - ve stěně kapilár jsou fenestrace
 - uvnitř buněk endotelu jsou přítomny četné mikrovezikly
- b) Omezení permeability je dáno převážně těsným intracelulárním spojením (tight junctions) mezi epiteliálními buňkami plexus chorioideus.
- c) Tato spojení jsou však permeabilnější než tight junctions mozkových kapilár v jiných oblastech. Tato oblast je určitým „slabým místem“, kde může být hematoencefalická bariéra poměrně snadno narušena.

Bariéra likvorocefalická

Existence strukturálního podkladu likvorocefalické bariéry je diskutabilní. Jediným nesporným znakem jsou relativně úzké extracelulární prostory mezi jednotlivými buňkami v CNS a jejich výběžky.

3.2.2.2. Transportní mechanismy hematoencefalické bariéry

Přestup látek přes struktury hematoencefalické bariéry uskutečňuje a reguluje celá řada transportních mechanismů:

- a) Prostá difúze a prostup iontovými kanály. „Pasivně“ prostupují hematoencefalickou bariérou látky lipoidní, některé malé neutrální molekuly, jako O_2 a CO_2 a voda. Zčásti přestupují z krve do mozku bez účasti aktivních transportních systémů i některé malé ionty, hlavně Na^+ a Cl^- .
- b) Aktivní transport. Je většinou stereospecifický (např. do mozku je aktivně transportována D-glukóza, avšak nikoliv L-glukóza). Transport určité látky je často inhibován molekulami strukturálně podobnými. Na abluminální membráně, tj. na straně mozkového parenchymu, je lokalizována $Na^+ - K^+$ pumpa ($Na^+ - K^+$ ATPáza). Tímto mechanismem je umožněn aktivní transport sodíku do mozkové tkáně, respektive

do likvoru, a aktivní transport draslíku do krve. (Trojan a kol. 2003) Mozkové kapiláry obsahují mnohem více mitochondrií než ostatní kapiláry. Je možné, že tyto četné mitochondrie dodávají energii pro aktivní transport ve vodě rozpustných látek, neboť do mozku je transportováno mnoho látek v lipidech nerozpustných. Kromě výše zmíněné glukózy jsou to např. karboxylové kyseliny, puriny či aminové kyseliny. (Craig a kol. 2004)

c) Další enzymatické systémy. Transport některých biologicky aktivních látek, jako je serotonin a acetylcholin, je částečně blokován enzymy endoteliálních buněk. Mozkové kapiláry obsahují monoaminoxidázu a acetylcholinesterázu, které rychle metabolizují serotonin a acetylcholin, způsobují jejich konverzi na inaktivní formu. Podobně dochází k enzymatické inaktivaci enkefalinů a dalších peptidů. Tato „enzymatická bariéra“ funguje velmi efektivně, řada substrátů je však zřejmě transportována přes tight junctions a enzymatické systémy tak obchází. (Trojan a kol. 2003)

Mozkové kapiláry vykazují velmi málo pinocytických vezikulů (Craig a kol. 2004), přesto někteří autoři popisují kromě filtrace a difúze také vezikulární transport (pinocytózu). Tento transcelulární transport nemohl být doposud dynamicky pozorován. Histologicky zachycená stadia podávají pouze stacionární svědectví o menších a větších plazmalemových vkleslinách a jamkách, které se pravděpodobně zaškrucují a plazmatická kapička se pak pozře do nitra buňky. Připouští se však i jiné vysvětlení, že totiž oválné dutinky s plazmatickou náplní na tenkých řezech jsou vlastně součástí transendotelového kanálku, který se vlní mimo roviny sledovaného řezu. Tyto kanálky, tvořící se podle dané situace na hematoencefalické bariéře, by byly průduchy přímého transcelulárního transportu (tubular bodies). (Kalvach a kol.1997)

3.3. Mozkové ischemie

3.3.1. Patogeneze ischemie

3.3.1.1. Vliv ischemie na neuron a glii

Kyslíková nabídka v normální arteriální krvi přesahuje mozkovou kyslíkovou potřebu asi dvojnásobně, nabídka glukózy svou poptávku přesahuje asi dvacetinásobně. Snížení běžného mozkového průtoku až pod 50% se proto obvykle neprojevuje žádným deficitem funkce. Teprve při poklesu mozkového krevního průtoku k hodnotám kolem 20ml/100g tkáně/min klesá funkční aktivita neuronů. Hypoxie se nejrychleji projeví v mozkové kůře (nepozornost, závrativost, mdloby). Setrvá-li však nedostatečný mozkový průtok na hodnotách pod 20ml/100g tkáně/min déle, dochází k dlouhodobější depolarizaci buněčné membrány se ztrátou funkce (parézy, ztráty zraku, hyperestézie, ztráty vědomí apod.).

Porucha funkce neuronu, nastupující v prvních minutách ischemie, tkví největší měrou ve ztrátě membránového potenciálu a snížení počtu synaptických vezikul (které současně zduří). Také zvětšení objemu dendritických zakončení přispívá k přerušení neurotransmise. Tkáň bez průtoku postrádá dodávku energetických substrátů a odklizení metabolických konečných produktů, včetně laktátu. Jakmile buňky kolabují, snižuje se evidentně extrakční frakce kyslíku. Extrakční frakci kyslíku může dosud měřit jen pozitronová emisní tomografie.

Mozková ischemie se projeví i na stavu fosfátových energetických rezerv. Dochází k poklesu kreatinfosfátu i ATP a vzestupu neorganického fosfátu. (Kalvach a kol. 1997) To vede k útlumu membránových iontových pump, k depolarizaci neuronálních membrán a k vyplavování celé řady neurotransmiterů. Depolarizací nedochází pouze k otevření napětově řízených iontových kanálů, ale i k otevírání kanálů regulovaných receptory (NMDA, AMPA), které umožňují vstup Ca^{2+} iontů do nitra neuronů, anebo způsobují Ca^{2+} uvolňování do cytosolu z vnitrobuněčných rezerv. Aktivace receptorů typu AMPA výrazně přispívá k zesílenému Na^+ průniku do nitra neuronů, který zapříčiňuje buněčný edém až celulární smrt. Ca^{2+} má v buněčném metabolismu ústřední úlohu, proto změny v jeho intracelulární koncentraci mohou mít pro buňku mimořádně vážné důsledky. Při jeho zvýšení se aktivuje řada enzymů. Mezi nejdůležitější z nich patří proteázy a endonukleázy, které mohou destruovat cytoskelet, anebo regulační enzymy, které mohou poškozovat i funkci jádra. Aktivace fosfolipázy

C a zejména fosfolipázy A₂ vede k hydrolýze membránových fosfolipidů a k destrukci buněčných membrán. Aktivuje se i kaskáda kyseliny arachidonové, během které vznikají endoperoxidy lipidů, které dále podporují degradaci membránových lipidů. Aktivací NO-syntázy se zvyšuje produkce NO, která má sice vazodilatační účinek, ale z NO za přítomnosti superoxidového radikálu (O₂⁻) může vznikat peroxinitrát se silným oxidačním účinkem. Z něj může také vznikat velmi reaktivní hydroxylový radikál (OH). Nejdůležitější cestou vzniku volných kyslíkových radikálů je však mitochondriální metabolismus během nedostatku kyslíku. Další mechanismus vzniku O₂⁻ spočívá v oxidaci xantínu a hypoxantínu působením xantinoxidázy, které se kumulují během většího rozkladu ATP při nedostatku kyslíku. Volné kyslíkové radikály jsou velmi reaktivní metabolity, které peroxidují zejména lipidy buněčných membrán, čímž membrány destrukují; denaturují také bílkoviny a nukleové kyseliny. Tyto procesy neprobíhají pouze v období hypoxie, ale některé přetrvávají a dokonce se zintenzivňují zejména v prvních hodinách reoxygenace. (Štolc 1995, Albano a kol. 2005) Rovněž se prokázalo, že volné kyslíkové radikály působí i nepřímo, k poškození buňky dochází zprostředkovaně aktivací kaspázového systému. (Sugawara a kol. 2004)

Klesne-li mozkový krevní průtok pod hodnoty kolem 10ml/100g tkáň/min, způsobí po několika minutách, v důsledku výše uvedených změn, strukturální změny mozkových buněk. Nejcitlivější je neuron. Teprve s odstupem času po jeho poškození nastává rozvrat také v buňce oligodendroglie, poté mikroglie a posléze i v buňce endotelu. Též v citlivosti neuronů samotných je rozdíl. Mezi nejcitlivější patří pyramidové buňky kůry hippocampu (CA1 sektor), neurony III., V. a VI. vrstvy neokortexu, Purkyňovy buňky mozečku a některé malé buňky striata. Rozdílná citlivost neuronů je podmíněna jejich různou metabolickou aktivitou a také polohou ve vaskulárním řečišti. (Povýšil a kol. 2003, Kalvach a kol. 1997) Další výzkumy hematoencefalické bariéry během ischemie však ukazují, že gliální buňky, které sousedí s endoteliálními buňkami kapilár, působí specifickými faktory na tyto buňky a zvyšují jejich transcelulární permeabilitu. Z toho vyplývá, že některé změny nastupují dříve v gliálních buňkách. (Brillault a kol. 2002)

3.3.1.2. Ischemický polostín

Přerušení krevního zásobení bývá v praxi málokdy totální. Zatímco jádro ischemické léze může být postiženo plnou anoxií, periferní části kompromitovaného

ložiska jsou částečně zásobeny z kolaterálního oběhu. Tam pak nastává přechodná zóna, nacházející se v krevním zásobení mezi prahem letálním a prahem vyhaslé funkce. Práh vyhaslé funkce je totožný s prahem zániku elektrické aktivity.

Zóny buněk o zachovalé vitalitě, ale vyhaslé funkci většinou obkružují budoucí malatické ložisko a jsou předmětem našich nadějí při léčebném úsilí. Tvoří totiž, ale po určitý čas, tzv. okno příležitosti (window of opportunity). Významné je, že koncept polostínu má aspekt jednak prostorový, jednak časový. To, co je polostínem v časných fázích iktu, se mnohdy stává plnou tmou ve fázi pozdější. Náhled na dobu trvání okna příležitosti se v současné době mění. Podle recentních pozorování hraje potenciální roli v rozvinutí sekundárního poškození mozku apoptóza. Ta vrcholí za více než 24 hodin po zranění. (Faden 2002, Albano 2005)

Při těžké ischemii činí hodnoty mozkového krevního průtoku méně než 12 ml/100g/min, v oblasti polostínu pak 12-18 ml/100g/min a v normálním stavu 18 ml/100g/min. Rozdíl v krevním zásobení jednoho a druhého prahu a vitální úrovně je pouhých 5-8 ml/100g tkáně/min, a přesto může mít absolutní význam pro zachování životaschopnosti dané tkáně. Právě těchto 5-8 ml může zachránit vitalitu buněk a ve šťastných případech může docílit velmi dramatického akutního zlepšení. (Hakim 1987)

Zavedení rekombinantního tkáňového aktivátoru (rt-PA) do klinické praxe vedlo ke zlepšení ischemických následků tehdy, byla-li terapie zahájena do 3 hodin od začátku zranění. (Phan a kol. 2002) Posun v technikách magnetické rezonance (MR), zejména pak MRI, DWI, PI a PET ukázal, že zachranitelná penumbrální tkáň se u některých pacientů může vyskytovat i po 48 hodinách. (Heiss 2000, Read a kol. 2000)

Ischemizované penumbrální okrsky zásobované kolaterálním řečištěm mohou však být za stavu hyperglykémie zvýšeně poškozovány a to díky tomu, že právě krevní zásobení je zde na vyšší úrovni než v ischemickém jádře. Dochází totiž k větší nabídce glukózy tkáním, a proto nejméně poškozenou oblast nacházíme až v zóně na konci arteriálního zásobení tkáně. (Ginsberg 2002)

3.3.1.3. Tkáňové změny v centru ischemického ložiska

Většina badatelů je za jedno v názoru, že iniciální strukturální změnou v ischemickém neuronu je zduření mitochondrií. Jednak se poškozuje jejich membrána, nezbytná k oxidačním fosforylacím a tím k proteosyntéze, jednak se uvolňují volné

radikály, reagující dále s fosfolipidy a narušující stav buněčných membrán všeobecně. Inhibice proteosyntézy znamená hrubý rozvrat integrity neuronu. Ustává metabolismus aminokyselin a produkce neurotransmiterů.

Satelitní oligodendroglie i astrocyty reagují na akutní ischemii dosti rychle. Jejich pseudopodie, objímající těla neuronů i stěny kapilár, se nalévají nasátou vodou a jejich objem zduří v některých případech až na trojnásobek. Voda z okolí proudí do buněčného nitra hlavně v důsledku selhání natrium-kaliové pumpy. (Kalvach a kol. 1997) Narušení funkce astrocytů během ischemie může kriticky ovlivnit přežití neuronů. Je známo, že astrocyty mají vliv na vychytávání a uvolňování glutamátu, vychytávání volných radikálů, transport vody, produkci cytokinů a NO. (Chen, Swanson 2003)

V úvahách o patogenezi tkáňové hypoxie je nutno rozlišovat mezi zástavou krevního proudu a zástavou oxidační. Druhá z těchto eventualit má podstatně menší efekt na tvorbu tkáňového edému, protože zachovalý krevní průtok, byť bez přísunu kyslíku, je ještě schopen kompenzovat hydratační abnormality tkáně.

Selhavší natrium-kaliová pumpa způsobí obohacení buněk natriovými ionty a vodou. Extracelulární prostor se stísni zvětšenými těly astroglie a ischemické ložisko získá expanzivní charakter.

V metabolismu hypoxické tkáně nabývá navrchu anaerobní glykolýza. Laktoacidóza s nedostatečným odplavováním metabolických produktů vyústí ve zvýšený kvocient laktát/pyruvát se snížením pH tkáně. I při obnovení cirkulace má tento stav výraznou setrvačnost. Ještě za 20 hodin po uvolnění jednogodinové okluze a. cerebri media u opic bylo možno v modelu experimentální anoxie detekovat zvýšenou koncentraci laktátu. Toto zpoždění ve vyplavování kyselých produktů metabolismu se vysvětluje přesycením nosičového systému mezi glií a kapilárním endotelem. (Mršulja a kol. 1997)

O osudu ischemického ložiska rozhoduje též teplota mozkové tkáně. Regulací teploty zvenku, např. chladným proudem vzduchu nebo teplou lampou, se mohou měnit vyhlídky daného experimentálního objektu na neuronální přežití: hipokampální pyramidové neurony vykazovaly poškození stupně 2 – 3 (téměř nebo úplně všechny zničeny) u 100% hemisfér udržovaných na 36 °C během ischemie, ale pouze u 20% hemisfér udržovaných na 34 °C a u 0% hemisfér na teplotě 33, resp. 30 °C.

Ochranný efekt chladu se nepodařilo vysvětlit ani změnou mozkového krevního průtoku, ani změnou energetických metabolitů či volných mastných kyselin. Efekt

chladu se však projevil na uvolňování neurotransmiterů do tkáně. Obvyklý ischemický 7násobný vzestup uvolněného glutamátu do extracelulárního prostoru se podařilo zcela potlačit zchlazením mozku z 36 °C na 33 °C a rovněž ischemické extracelulární uvolňování dopaminu se tímto zásahem snížilo o 60%. (Busto a kol. 1997)

Výrazný protektivní efekt je ovšem třeba aplikovat velmi rychle. Snížení mozkové teploty na 30 °C, zavedené 5 minut po ukončení oboustranného desetiminutového podvazu karotid, přineslo výraznou úsporu tkáně, zatímco aplikace za půl hodiny po ukončené ischemii způsobila již pouze chabou ochranu.

Metabolické výzkumy posledních let zaměřily pozornost na významnou roli selhání lipidové biosyntézy při buněčné anoxii. Během anaerobní fosforylace nastává velmi rychle degradace membránových fosfolipidů s prudkým následným vzestupem hladiny volných mastných kyselin. V prvních minutách ischemie se jejich množství zvyšuje 10–20x. Hlavní zastoupení mezi vzniklými volnými mastnými kyselinami mají kyselina eikosatetraenová (arachidonová), dokosahexaenová, hexadekanová (palmitová) a oktadekanová (stearová). Dalšími účastníky lipidové degradace jsou prostaglandiny a tromboxan. Stoupají zvláště s novým přívodem kyslíku při reperfuzi. Lipolytické reakce destruuji buněčnou membránu, s níž selhávají její životně nezbytné funkce: iontový transport, synaptická transmise, enzymatická aktivita a znovu oxidační fosforylace.

3.3.1.4. Mozková diaschiza

Diaschiza je vyhasnutí funkce s potlačením regionálního metabolismu a průtoku v oblasti anatomicky vzdálené, ale funkčně propojené s primárním ložiskem poruchy CNS. Diaschizu lze studovat pomocí EEG, evokovaných potenciálů, mozkového krevního průtoku, cerebrálního metabolického obratu kyslíku, cerebrálního metabolického obratu glukózy a sledováním hladin neurotransmiterů nebo proteinové syntézy. Akutní projevy diaschizy nelze pozorovat počítačovou tomografií nebo zobrazovací magnetickou rezonancí. Diaschitická tkáň nemá totiž rozpojení mezi mohutností metabolismu a průtoku, netrpí tedy ve své vitalitě, a proto neprodělává žádné změny obsahu vody či lipidů, které by prozradily patologii na počítačovém tomografu, ani změny v molekulární kompozici látek, které by nám prozradily patologii magnetickou rezonancí.

Vyhasnutí funkce ve vzdálené zóně transsynaptického spojení provází v dotyčném místě pokles metabolického obratu kyslíku i glukózy. V důsledku snížené metabolické poptávky zde klesá i tkáňový průtok.

Nástup diaschizy v CNS je neobyčejně rychlý. Ke změnám dochází během sekund. Rychlost reakce svědčí pro to, že základní patologií je náhlá ztráta facilitace. Jde spíše o funkční dezaktivaci parenchymu, než o vazoreaktivní poruchu. (Kalvach a kol. 1997)

3.3.1.5. Porucha hematoencefalické bariéry při ischemii

Celistvost a fyziologickou funkci hematoencefalické bariéry je možno narušit celou řadou fyzikálních a chemických vlivů, které se společně projevují zvýšením transendotelové pasáže. Z experimentálních modelů jsou v literatuře nejčastěji referovány radiace, trauma, akutní hypertenze, konvulze, chladové léze, ischemie, ultrafialové záření, kyselina arachidonová s eikosanoidy, bradykinin, histamin a volné radikály, portokavální anastomózy, deplece thiaminu, rtuťová intoxikace, vzduchová embolie a další. Poškození bariéry nastává jednak zvýšením pinocytického transportu přes endotelovou buňku, jednak otevřením interendotelových juncí. Porušením hematoencefalické bariéry se narušuje homeostáza extracelulární tekutiny, která již při malých fluktuacích může zřetelně měnit senzitivitu synapsí. (Klatzo a kol. 1997, Marmaron a kol. 1997) Hlavními faktory, které vedou ke zvýšení pinocytického transportu se jeví produkce NO, uvolňování neurotransmiterů a mediátorů zánětu, hemodynamické změny (zejména akutní zvýšení intravaskulárního tlaku krve). Cipolla a kol. 2004 prokázal, že během ischemicko-reperfuzního poškození dochází ke zvýšení tvorby vezikulů v bazolaterální části mozkových endotelií na 166%.

Stržení hematoencefalické bariéry při mozkové ischemii provázejí tyto patofyziologické mechanismy:

- a) extravasace sérových proteinů strhává s sebou do intersticia vodu za vzniku extracelulárního edému,
- b) abnormální pasáž farmakologicky aktivních substancí (jako jsou biogenní aminy) mění reaktivitu buněk hladké cévní svaloviny,
- c) je narušena extrakce tkáňových metabolitů a toxických místních produktů zpět do cévního lumina.

Selektivita komplexního mechanismu hematoencefalické bariéry se projevuje v časovém sledu jednotlivých poškození hematoencefalické bariéry i v jejich reverzibilitě: únik mikromolekulárních substancí (např. sacharózy) nastává již po 1 hodině, proteiny unikají za 5–15 hodin, a vrchol abnormální pasáže noradrenalinu, serotoninu a dopaminu byl pozorován teprve za 72 hodin. Voda sama proniká hematoencefalickou bariérou fyziologicky. Záleží ovšem na jejím množství. To stoupá s přestupem osmoticky aktivních látek a experimentálně bylo prokázáno, že restituce vazogenního extracelulárního edému časově koreluje s vymizením extravaskulárního proteinu (značeného ^{131}I). (Klatzo a kol. 1997, Marmaron a kol. 1997)

Biogenní aminy mají normálně zablokovaný výstup z kapiláry enzymy přítomnými v endotelových buňkách. Zatímco uvnitř cévy mají vliv malý, řízený, po výstupu z lumina ovlivňují jednak hladkou svalovinu jednak neurony samotné.

S narušením transportu kyseliny mléčné ze tkáně do kapilár vzrůstá acidóza a osmolarita intersticia. Akumulace kyseliny mléčné při ischemii je determinována také předchozí hladinou krevní glukózy, která tak spolurozhoduje o závažnosti ischemického inzultu.

V praktické představě o vývoji infarktového ložiska je třeba mít v patnosti jednu významnou okolnost. V cévě, v níž definitivně ustal krevní tok, se nemůže porucha hematoencefalické bariéry projevit. To je možné jen v takové kapiláře, kde porucha hematoencefalické bariéry nastala, avšak nový krevní proud obnovil perfuzi v podmínkách vadné kapilární stěny. Ke vzniku vasogenního edému je předpokladem obnovení nebo zachování průtoku v poškozené kapiláře. Z toho vyplývá známý fakt, že projevy porušené hematoencefalické bariéry můžeme pozorovat většinou v periférii ischemických ložisek. V samotném centru projevy léze hematoencefalické bariéry patrné nejsou, a centrum se tak vyvíjí vstříc nekroze.

Časový sled stržení hematoencefalické bariéry předpokládá alespoň dva hlavní mechanismy:

a) nejprve náhle zvýšený intraluminální tlak vnikne do kompletně ischemicky paralyzovaných cév a způsobí disporci mezi tonem cévní stěny a intravaskulárním tlakem,

b) později nastane nová extravasace, která není již řízena závislostmi tlakovými, nýbrž odpovídá změněným fyzikálním a chemickým vztahům na hematoencefalické bariéře. Významnou roli hraje kyselina arachidonová a z ní vznikající eikosanoidy. Aktivací fosfolipázy, snad v souvislosti s volnými radikály nebo vzestupem

intracelulárního volného kalcia se množí i další metabolity kyseliny arachidonové, totiž prostaglandiny a leukotrieny, které rovněž zvyšují permeabilitu mozkového kapilárního řečiště. (Kuroiwa a kol. 1997)

3.3.1.6. Edém u mozkových ischemií

Mozkový edém představuje zvýšení obsahu vody v mozkové tkáni. Makroskopicky se projevuje většinou zvětšením objemu, oploštěním gyrů a zúžením sulků. Mozku je zvláště nebezpečný pro jeho uzavření v omezeném intrakraniálním prostoru. Zvětšený objem vyvolává deformace komor a ostatních likvorových prostorů, posuny střední čáry a popřípadě herniace mozkové tkáně v intrakraniálních úžinách: herniaci gyri cinguli pod falx cerebri, gyri uncinati v insura tentorii a mozečkových tonzil do foramen occipitale magnum.

Pro stanovení mozkového edému histologicky je rozhodující poměr suché hmotnosti parenchymu k obsahu vody. Šedá hmota mozková je na vodu fyziologicky bohatší než hmota bílá.

V obecné klasifikaci mozkového edému se nejčastěji používá dělení na dva základní typy edému:

1. Vasogenní edém - vznikající extravazací krevních proteinů a látek normálně nepřestupujících přes hematoencefalickou bariéru. Tento edém je přítomen ve tkáni s porušeným cévním endotelem a pro své extracelulární uložení je ve tkáni volně pohyblivý. Šíří se cestou nejmenšího odporu. Nacházíme ho převážně v bílé hmotě. Kopíruje pak její rozložení proti hmotě šedé a v CT-obraze dostává prstovitý charakter. Vyskytuje se hlavně u tumorů, kde překotný růst tkáně nese s sebou novotvorbu kapilár s nehodnotnou stěnou a uvolněnými kontakty gliálních pseudopodií. U mozkových infarktů je vasogenní edém dokumentem porušené hematoencefalické bariéry v pokročilejších stádiích malacie. Z místa svého vzniku postupuje tento edém podle hydraulických a osmotických gradientů.

2. Cytotoxický edém - vznikající při narušení membránové pumpy mozkové buňky, s následným obohacením buněčného nitra vodou. Svým intracelulárním uložení je tento edém opouzdřený, imobilní, a proto způsobuje větší zmohutnění tkáňového objemu. Jeho podstatou je, oproti plazmatickému filtrátu u edému vasogeního, plasmatický ultrafiltrát. Postihuje šedou a bílou hmotu bez rozdílu a není provázen extravasací velkých molekul z krevního lumina do intersticia.

3. Intersticiální přetlakový edém - nazývaný také hydrocefalickým edémem – je dalším, samostatným typem edému. Vzniká zvýšením intraventrikulárního likvorového tlaku při obstrukci likvorových cest (např. nádorovou kompresí aquaeductus mesencephali nebo IV. komory). Intersticiální tekutina, neschopná přestupu přes ependym, se hromadí v těsném sousedství komorové stěny. Někteří autoři vysvětlují tento stav nikoliv jako hromadění tekutiny před zablokovaným odtokem do komor, nýbrž jako opačný – transpendymální – přestup likvoru z přeplněných komor do intersticia. Po zavedení komorové drenáže je ústup intersticiálního edému nejvýmluvnějším dokladem správné funkce shuntu, podobně jako ji potvrzuje zmenšení objemu komor.

4. Pojem ischemický edém se označuje hyperhydratace infarktových ložisek v důsledku tkáňové hypoxie. Vzniká ve tkáni, která se dusí. Mozkový edém je potenciální letální komplikace mozkového infarktu. Ischemie působí poruchu membránové iontové pumpy a tím indukuje otok buňky a vznik cytotoxického edému. (Gasche, Copin 2003) Za poruchou funkce následuje sice brzy, ale v CT-obraze je počáteční edém opožděn o mnoho hodin, takže jako první zdroj hypodenzie se demonstruje malatické ložisko v CT-obraze nejdříve za 10 – 48 hodin, většinou však až mezi 2. a 10. dnem. Termín “ischemický“ má jen částečné oprávnění, protože tento typ edému se nevyklučuje z předchozí klasifikace, jsa kombinací prvních dvou typů. Edematózní vývoj infarktového ložiska začíná jako intracelulární hyperhydratace typu cytotoxického a s různým časovým odstupem se jeho postupné vymizení překrývá s nástupem edému vasogenního. (Kalvach a kol. 1997)

Patofyziologie ischemického edému. Mechanismy stržení hematoencefalické bariéry vedoucí ke vzniku ischemického edému mozku zahrnují aktivaci endoteliálních buněk a degradaci basální membrány endotelu metalloproteinásami. (Gasche, Copin 2003) Histochemické studie a fyzikální měření specifické hmotnosti tkáně dokáží detekovat vzestup tkáňové vody již za 5 minut po nasazení arteriální okluze. Maximum tohoto vzestupu obvykle prokazují za 3 – 4 dny. Primární akumulace vody je zásadně intracelulární. Vzniká vakuolizace a zduření astroglie (bez postižení oligodendroglie) a zblednutí myelinu. Úvodní cytotoxický edém je prost proteinů. Protože v této fázi nenastává porucha propustnosti kapilární stěny, nepřestupují do intersticia v pokuse na zvířeti trypanová ani Evansova modř, podané jako tracersy porušené hematoencefalické bariéry. Takováto porucha nastává mnohem později a o tom, zda k ní vůbec dojde, rozhoduje závažnost a trvání ischemie. Čím déle trvá okluze tepny, tím dříve po jejím

uvolnění se dostavuje přestup bílkoviny s následným stržením vody přes kapilární endotel do intersticia. Rezistence cévního endotelu k ischemii je podstatně vyšší než rezistence neuronů a glie, takže v některých experimentech přečkával intaktní endotel ireverzibilní změny mozkového parenchymu až o 18 hodin. Když nakonec přece podlehně, nastává druhé období ischemického edému – totiž fáze vasogenní, extracelulární.

Elektronová mikroskopie ukazuje, že hustota neuroepitelu je tak vysoká, že za normálních okolností je extracelulární prostor velmi úzký. Platí to zejména pro mozkovou kůru, která je složena z buněčných těl a vzájemně je spojujících dendritů. Šíření edémové tekutiny touto spleť je obtížnější než šíření hmotou bílou. Uspořádání bílé hmoty v paralelně probíhajících svazcích neuritů umožňuje relativně volnější šíření extracelulární tekutiny.

Příliv hematogenní tekutiny do vnitřního prostředí neuroepitelu vyvolává změny v iontové rovnováze, a tím narušuje podmínky nervové transmise. Astrocyty, které mimo jiné tvoří izolační pochvy synapsí, ztrácejí tuto účinnost. V neuronálních svazcích bílé hmoty, které jsou svým uspořádáním částečně kryty ve svém periaxonálním obalu proti ostatnímu extracelulárnímu prostředí CNS, se tato konfigurace narušuje rozpolcením myelinových lamel a porušuje se homeostáza Ranvierových zářezů, nezbytná pro správné vedení vzruchu. (Kalvach a kol. 1997)

Výklad edémových účinků na tkáň však bude asi složitější. Dosud se totiž vedou diskuse o tom, zda vůbec edém sám o sobě tkáni škodí. Výše zmíněné poruchy homeostázy extracelulární tekutiny působí zřejmě až od jistého stupně nebo pouze v souvislostech s jinými průvodními znaky ischemie. Některé experimenty porušenou funkci při prostém obohacení tkáně vodou nenašly. Při srovnání tumorů bez edému a s edémem u člověka nebyly shledány žádné EEG-změny, které by bylo možno přičíst edému samotnému. Rapaport pomocí hyperosmolárních roztoků dočasně prolamoval opicím hematoencefalickou bariéru, a umožňoval tak volnou směnu plazmatických bílkovin s extracelulární tekutinou. Ani v jeho experimentech nenastaly neurologické poruchy, ani se neobjevily změny evokovaných potenciálů při otoku bílé hmoty v sensorických oblastech. (Rapaport a kol. 1997) Mnozí autoři zastávají proto názor, že mozkový edém škodí funkci pouze v podmínkách sevřeného prostoru, kde zvýšený intrakraniální tlak snižuje cerebrální průtok.

Vzestup intrakraniálního tlaku při vzrůstajícím edému je závislý na možnostech kompenzačních mechanismů. Cerebrospinalní likvor tvoří tlakový polštář a převodní

mechanismus pro veškeré tlakové výkyvy v nitrolebečním prostoru. Chytá tlakovou vlnu při systole a převádí její objem na vény, z nichž se tím urychluje vypuzování krve. Kromě toho vyrovnává drobná kolísání mozkového objemu, která v několikaminutových intervalech nastávají v zájmu metabolických potřeb mozku. Roste-li v mozku expanze, snižují kompenzační mechanismy periferní odpor v cévách. Klesá arteriální rezistence (vasodilatací), zmenšuje se intrakraniální žilní objem, klesá likvorový kompartment. V určitém okamžiku však mohou být tyto mechanismy vyčerpány a malý vzestup intrakraniálního tlaku přídatným edémem pak přesáhne únosnost.

S vývojem experimentálního edému tlak intersticiální tekutiny vzrůstá. Pokud se tvorba edému zastaví, vytvoří se nové ekvilibrium a zvýšený lokální edémový tlak rozptýlí tekutinu do okolí, čímž otok zaniká. Předpokládá se, že otok zaniká nakonec transependymovou drenáží do komor a ingescí exsudátu astrocyty. Nabízí se možnost zpětné pinocytózy.

Tkáňová pohotovost se tvorbě edému přizpůsobuje, takže při pozvolném vývoji se s ním postupně vyrovnává. Rychlost formace edému je tak mnohdy pro vznik intrakraniální hypertenze významnějším faktorem než velikost edému sama. Hydrostatické gradienty se zachovávají pouze po dobu trvalého úniku tekutiny z cévy. Jakmile extravasace ustává, vyvažuje se tkáňový tlak rozptýlením přebytečné vody na úroveň intrakraniálního tlaku. (Kalvach a kol. 1997)

3.4. Glykémie

3.4.1. Regulace glykémie

Hladina krevní glukózy (glykémie) je biochemický parametr, který je přesně a citlivě regulován, se zřetelem k tomu, že pouze určité rozmezí hodnot je slučitelné s normální funkcí organismu a extrémní odchylky od tohoto rozmezí představují ohrožení života.

Glukóza je zdrojem energie, který je z hlediska metabolismu nejsnáze přístupný, k jejímu využití stačí prostá fosforylace. Pro některé orgány a tkáně je za fyziologických podmínek zdrojem jediným. (Zamrazil a kol. 1997)

Glykémie se u zdravého jedince udržuje v relativně úzkém rozmezí 3-8 mmol/l a závisí na rovnováze mezi přísunem a odsunem glukózy z plazmy. (Bartoš a Pelikánová 1996) Na lačno je koncentrace glukózy v krvi 3,3-6,1 mmol/l, za fyziologické rozmezí se považuje 3,9-6,7 mmol/l. (Trojan a kol. 2003)

Regulace glukózového metabolismu tvoří důležitou součást regulace celkových změn. Z patofyziologického hlediska je nutno si uvědomit, že metabolismus glukózy je neoddelitelnou součástí celkových metabolických dějů, u nichž nelze hodnotit jednotlivě metabolismus sacharidů, lipidů a proteinů. Z klinického hlediska je důležité, že závažné poruchy metabolismu jedné složky se projeví i v poruchách dalších metabolických dějů. To vysvětluje komplexní změny u diabetu a naopak poruchy metabolismu sacharidů u celkových onemocnění, kde primární je porucha metabolismu lipidů nebo proteinů.

Protože příjem glukózy potravou není kontinuální a naopak její potřeba k udržení energetického metabolismu je trvalá, je přísun glukózy v podmínkách nalačno zajištěn jaterní produkcí. Zdrojem **produkce glukózy** v játrech je jaterní glykogenolýza a glukoneogeneze z tříuhlíkatých prekurzorů, vznikajících odbouráváním svalového glykogenu (pyruvát, laktát), svalového proteinu (aminokyseliny alanin, glutamin) a při lipolýze tukové tkáně (glycerol). (Bartoš a Pelikánová 1996),

Nervový systém se významně podílí na regulaci glykémie a to prostřednictvím sympatiku (sympatické inervace dřeně nadledvin) a parasimpatiku (vagová inervace pankreatu). (Trojan a kol. 2003)

Při odsunu glukózy, jak uvádí Bartoš a Pelikánová (1996), se uplatňuje:

a) non-insulin-dependentní transport:

Glukóza vstupuje do buněk facilitovanou difúzí, závisí na koncentračním spádu a je zprostředkována glukózovými transportéry GLUT 1,2,3,5. V podmínkách nalačno se uplatňuje zejména ve tkáních nezávislých na insulinu, jako jsou např. CNS (GLUT 1 transportuje glukózu přes hematoencefalickou bariéru), krevní elementy, varlata, pro které je glukóza prakticky jediným energetickým substrátem (pouze při protražovaném hladovění mohou využívat ketolátky). (Bartoš, Pelikánová 1996, Peters a kol. 2002) Také endoteliálních buňky, epitelové buňky gastrointestinálního traktu a pankreatické buňky jsou volně permeabilní pro glukózu. (Craig, Stitzel 2004) Tento transport existuje i v tkáních závislých na insulinu a hraje roli např. při postprandiálním vzestupu glykémie nebo při fyzické aktivitě, která přímo aktivuje GLUT 4. Dalším transportem nezávislým na insulinu je energeticky podmíněný kotransport sodíku a glukózy v proximálních tubulech ledvin daný aktivitou Na,K-ATPázy.

b) insulin-dependentní transport:

Uplatňuje se zejména postprandiálně a je zprostředkován glukózovými transportéry GLUT 4. Děje se do insulin senzitivních tkání, jejichž hlavními představiteli jsou svalová a tuková tkáň, ale také játra a střevo. (Bartoš, Pelikánová 1996, Peters a kol. 2002)

Po vstupu glukózy do buněk je glukóza fosforylována na glukózo-6-fosfát glukokinásou nebo hexokinásou a metabolizována:

- a) oxidativně (oxidace v Krebsově cyklu)
- b) neoxidativně (tvorba glykogenu, glykolýza a vznik tříuhlíkatých prekurzorů), (Bartoš, Pelikánová 1996)

Jednotlivé fáze regulace glykémie:

V regulaci glykémie se rozlišují 2 fáze, fáze sytosti a fáze hladovění.

1. Fáze sytosti

Po požití potravy a jejím zpracování v horních úsecích zažívacího systému je krevní oběh zaplaven velkým množstvím živin, směsí sacharidů, mastných kyselin a aminokyselin. Tyto látky jsou jednak potenciálním zdrojem energie, jednak stavebními kameny pro tvorbu různých pro organismus potřebných látek. Regulační

mechanismy zajišťují v této oblasti optimální využití, resp. uložení v příslušných tkáních ve formě zásob (glykogen, tuky). Zároveň se aktivuje činnost enteroinsulární osy a Langerhansových ostrůvků, zejména sekrece insulinu. Současně se snižuje sekrece hormonálně aktivních látek, které aktivují lipolýzu a využití jejich produktů v periferních tkáních. (Zamrazil a kol. 1997)

Specifickým stimulem pro vyplavení insulinu je zvýšení sérové hladiny glukózy, ostatní substance mají mnohem menší vliv. Vstup glukózy do β -buňky pankreatu je zprostředkován glukózovým transportérem GLUT 4. Glukóza je částečně fosforylována na glukózo-6-fosfát, který spouští intracelulární influx kalciových iontů, ty pak podnítí splynutí váček obsahujících insulin s buněčnou membránou (exocytóza). (Craig, Stitzel 2004)

2. Fáze hladovění

Po vstřebání živin včetně glukózy ze zažívacího systému začíná převažovat odsun z oběhu do periferních tkání. Glykémie proto klesá. Základními mechanismy, které zabraňují nadměrnému poklesu, jsou:

- a) snížení utilizace glukózy v některých periferních tkáních, hlavním mechanismem je pokles sekrece insulinu
- b) aktivace kontrainsulárních (hyperglykemizujících) regulačních mechanismů

V první fázi se zvyšuje sekrece adrenalinu a glukagonu. Jejich primárním a nejrychlejším účinkem je glykogenolýza. Glukagon působí především v játrech a adrenalin ve svalové tkáni. Současně mají oba hormony lipolytický efekt, tj. v tukové tkáni vedou k rozpadu tuku a k uvolnění mastných kyselin a glycerolu do oběhu. Volné mastné kyseliny soutěží s glukózou na buněčné úrovni a jsou využívány jako zdroj energie za určitých okolností preferenčně. Tím klesá utilizace glukózy v tkáních mimo CNS a glukóza uvolněná z glykogenu může být využita právě v mozku.

V další fázi se uplatňuje kromě uvedených mechanismů glukoneogeneze, tj. tvorba glukózy z ostatních živin, zejména aminokyselin a mastných kyselin. Výraznou měrou se začíná uplatňovat vliv dalších kontrainsulárních hormonů, především kortizolu a růstového hormonu. Kortizol vede k rozpadu bílkovin, uvolnění aminokyselin a k jejich přestavbě na glukózu nebo její metabolity. Současně vede k insulinorezistenci, tj. snižuje utilizaci glukózy vyvolanou insulinem.

K insulinorezistenci vede rovněž růstový hormon, který na rozdíl od kortizolu vyvolává fázi šetření proteiny, jak přímým účinkem, tak vlivem IGF 1 (insulinový růstový faktor 1), jehož vznik v játrech stimuluje. (Zamrazil a kol. 1997)

3.4.2. Hladina glykémie – ukazatel závažnosti ischemického poškození mozku

V této kapitole jsou rešeršně zpracovány poznatky týkající se vlivu hladiny krevní glukózy na ischemizovanou mozkovou tkáň. Shromážděná experimentální a klinická data vysvětlují a potvrzují nezbytnost normalizace hladiny glukózy v krvi během terapie závažného poškození hlavy, ve snaze zabránit nebo alespoň zmírnit neurologické následky.

Touto problematikou se zabývají autoři (viz níže) jednak v experimentálních podmínkách na laboratorních modelech, nebo jde přímo vyhodnocování klinických případů hospitalizovaných pacientů. Nejčastěji se objevuje hodnocení vztahu hyperglykémie a neurologických následků po poškození hlavy, hyperglykémie a buněčná smrt neuronů, hyperglykémie jako ukazatel morbidity a mortality. Vybrané parametry jsme rešeršně zpracovali a uvedli je v přehledném celku.

Ve většině vyspělých států je ischemické poškození mozku třetí nejčastější příčinou úmrtí, a častou příčinou vážných invalidit. (Kalvach a kol. 1997) Studie provedené na zvířecích modelech a velké množství experimentálních dat ukazují, že hyperglykémie při ischemii mozku zhoršuje postischemické neurologické následky. Konzistentní s těmito pozorováními je nález, že i u lidí je hyperglykémie spojená se zhoršeným postischemickým poškozením mozku. Nalezená data lze však často špatně interpretovat díky problémům se způsobem měření hyperglykémie vzhledem ke kritické ischemii a v důsledku vlivu možných koexistujících patologických procesů majících vliv na zjištěné hodnoty (např. stresová odpověď organismu).

Vliv glukózy na vznik neurologického poškození je pozorován jednak při celkové ischemii (př. hyperglykémie doprovází srdeční selhání nebo závažnou systémovou hypotenzi) a také při globální či ložiskové ischemii mozku (např. trombóza nebo embolie).

Toxicita způsobená hypoxicky navozenou hyperglykemií je pravděpodobně výsledkem intracelulární laktózové acidózy a nebezpečného působení vodíkových iontů na neurony a gliové buňky. (Wass a kol. 1996)

3.4.2.1. Studie provedené na laboratorních modelech

Jedna ze studií zjišťovala (Li a kol. 1996), zda preischemická hyperglykémie zvyšuje hustotu neuronální nekrózy v CA 1 sektoru hippocampu. Model poškození předního mozku byl navozen ischemií mozku laboratorního potkana. Zvířata v anestézii byla na dobu 2,5 minuty nebo 5 minut podrobena ischemii předního mozku. Toto poškození bylo navozováno u normoglykemických a hyperglykemických potkanů. Po sedmi dnech bylo provedeno histopatologické vyšetření hippocampu, isokortexu, thalamu a substantia nigra. Ve tkáních byly dále sledovány koncentrace Ca^{2+} , K^+ , H^+ a změny akčního potenciálu. U normoglykemických a hyperglykemických skupin potkanů vyvolala 2,5 i 5 minutová ischemie podobné poškození CA 1 sektoru hippocampu (u normoglykemických zvířat poškození 10% až 15%, u hyperglykemických zvířat 20% až 30%). Nicméně u hyperglykemických zvířat s 2,5 minutovou ischemií nebyly neurony CA 1 sektoru depolarizovány a koncentrace Ca^{2+} neklesla. U hyperglykemických zvířat s pětiminutovou ischemií byl celkový čas depolarizace o 2-3 minuty kratší než u normoglykemických zvířat. Tato fakta a výsledky ukázaly, že poškození neokortexu, thalamu a substantia nigra u hyperglykemických potkanů po 5 minutové ischemii demonstruje, že hyperglykémie má zhoršující vliv na poškození způsobené ischemií. Výsledky rovněž naznačují, že hypotéza o závažnosti následků ischemie trvající méně než 10 minut by měla být přesněji specifikována.

Tímtož problémem se zabývali další autoři, jejichž studie si kladla za úkol určit dobu trvání ischemie předního mozku, při které by byla hyperglykémie faktorem histologického a behaviorálního poškození u potkanů. Hladovější potkani (v anestézii) byli podrobni ischemii předního mozku. Před ischemií obdrželi i.v. salinický roztok (hladina plazmatické glukózy $6,2 \pm 1,0$ mmol/l) nebo glukózu (hladina plazmatické glukózy $19,0 \pm 2,8$ mmol/l). Zvířata byla vystavena 4, 8, 12 a 15 minutové ischemii a poté ponechána na zotavení. Sedmý den podstoupila přeživší zvířata hodnocení motorických funkcí a histologickou analýzu poškození v těchto oblastech: caudoputamen, sektor CA 1 hippocampu a substantia nigra pars reticularis. Po 4 minutové ischemii bylo nalezeno poškození všech sledovaných struktur. Jen v oblasti caudoputamen byla hyperglykémie spojována se zvýšeným poškozením, ale toto poškození nevedlo k záchvatu nebo smrti. Po 8 minutové ischemii se objevil

záchvat u 33% hyperglykemických potkanů a byl pozorován vliv hyperglykémie v CA 1 sektoru a substantia nigra. Bez ohledu na délku trvání ischemie se u normoglykemických zvířat neobjevily žádné záchvaty ani úmrtnost. Pouze u hyperglykemických potkanů vedlo delší trvání ischemie k vyšší četnosti záchvatů a úmrtnosti. Zhoršení motorických funkcí bylo pozorováno u hyperglykemických potkanů po 12 minutové ischemii. Závěrem autoři uvádějí, že hyperglykemií zhoršené ischemické poškození mozku po krátké 4 minutové celkové ischemii je evidentní a kritická doba ischemie pro přežití je 8 minut. (Warner a kol. 1995)

V další studii se autoři detailně zabývali buněčnou odpovědí na akutní celkovou cerebrální ischemii komplikovanou hyperglykemií. Samci kmene Wistar podstoupili v anestézii celkovou ischemii navozenou bilaterální okluzí arteria carotis communis plus hemorrhagicky navozenou hypotenzi (45 mmHg). Před ischemií dostala hyperglykemická zvířata dextrózu (2,5 ml, 25% roztoku, intraperitoneálně), to zdvojnásobilo průměrnou plazmatickou koncentraci glukózy na 16,4 mmol/l. Za tři dny nebo za 24 hodin byl mozek histologicky zpracován. U hyperglykemických zvířat podrobených ischemii byl počet normálních neuronů v CA 1 sektoru hippocampu snížen na jednu třetinu. Počet ischemických buněk byl u hyperglykemických zvířat s ischemií zvýšen 5x i vícekrát, než tomu bylo u normoglykemických zvířat s ischemií. Počet malých neuronů byl snížen o dvě třetiny. Neokortex a striatum normoglykemických a ischemizovaných zvířat vykazovalo jen mírné poškození, zatímco většina hyperglykemických a ischemizovaných potkanů měla rozsáhlé léze a vykazovala závažné kortikální, striátové a thalamické infarkty. U normoglykemických zvířat s ischemií se neobjevily žádné endotelové změny. Hyperglykemická zvířata s ischemií vykazovala nápadnou peri- a intravaskulární akumulaci polymorfonukleárních a monocytárních elementů za 24 hodin po zákroku. Třetí den po zákroku byly v piálních artériích nalezeny četné tromby vytvořené z bílých krvinek. Déle bylo nalezeno ztloustnutí vaskulárního endotelu s ohnisky parenchymálního prořídnutí a mikroinfarkty přilehlých oblastí okludovaných cév. U hyperglykemických zvířat podrobených ischemii byla nápadná mikrogliální aktivita, často podél penetrujících krevních cév a to ve striatu a neokortexu. Tyto změny byly méně rozsáhlé u normoglykemických potkanů s ischemií. Aktivované mikroglie u hyperglykemických a ischemizovaných zvířat byly typicky hypertrofické a améboidní. Tyto výsledky ukazují, že škodlivý vliv hyperglykémie při ischemii je způsoben zprostředkovaným

účinkem na vaskulární endotel, a to vede ke vzniku rozsáhlých ohnisek infarktů a neuronálním ztrátám. (Lin a kol. 1998)

Morfologická studie zabývající se vývojem změn při ischemii mozku potkanů sledovala taktéž neurologické změny za normoglykémie a hyperglykémie. Autoři se zaměřili na změny odehrávající se v období časné obnovy. U sledovaných potkanů kmene Wistar byla hyperglykémie navozena podáním infuze glukózy před ischemizací mozku. Ischemie předního mozku byla indukovaná oboustrannou okluzí arteria carotis communis a navozením hypotenze. Normoglykemičtí potkani před ischemizací hladověli. Ischemické změny neuronů byly kvantifikovány pěti-bodovou škálou v těchto oblastech: caudoputamen, globus pallidus, hippocampus sektor CA 1, kůra lobus parietalis a substantia nigra pars reticularis a to při ischemii a po 90 minutové recirkulaci. U hyperglykemické skupiny daly nalezeny tyto změny:

1. v oblasti caudoputamen, CA 1 a v kůře parietálního laloku bylo nalezeno těžké poškození neuronů
2. v oblasti globus pallidus bylo nalezeno malé neuronální poškození
3. v oblasti substantia nigra pars reticularis bylo pozorováno neuronální poškození ihned za trvání recirkulace, větší poškození bylo nalezeno v 90. minutě po recirkulaci

U normoglykemické skupiny nebylo nalezeno žádné výraznější poškození ve sledovaných oblastech. Hyperglykémie vyvolala ischemické neuronální poškození za trvání reperfuze. (Usuda a kol. 1996)

Významný vliv hyperglykémie na neurologické následky rovněž ukazuje následující studie zabývající se celkovou ischemií u psů. Autoři testovali hypotézu, že neuropatologické následky zjišťované v období rekonvalescence po celkové ischemii jsou stejné u normoglykemických zvířat a u zvířat s chronickým diabetem. Obě skupiny zvířat byly po 20 minut trvající ischemii a reperfuzi ponechány sedm dní na zotavení. Všechna zvířata kontrolní skupiny přežila zotavovací fázi. Z 12 diabetických zvířat přežilo sedm dní pouze 7. Zbylých 5 zvířat uhynulo v prvních třech dnech. U 4 přeživších diabetických psů a 11 normoglykemických zvířat bylo nalezeno stejné procentuální zastoupení neuronů vykazujících ischemické změny v mozečku, CA 1 sektoru hippocampu, horním temporálním gyru a nucleus caudatus. Diabetičtí psi, kteří nepřežili sedmidenní zotavovací fázi, vykazovali otok mozku, redukci hustoty Purkyňových buněk a mozkovou hernii. Preischemická hladina krevní glukózy byla znatelně zvýšena u zvířat, která nepřežila. Tyto výsledky u diabetických psů ukazují, že

hladina krevní glukózy těsně před ischemií je důležitým ukazatelem morbidity a neuropatologie. (Sieber a kol. 1996)

Další autoři ve své práci zjistili, že hyperglykémie zvyšuje poškození mozku (zranění způsobené nárazem), je-li toto zranění komplikováno sekundární ischemií. Hyperglykémie zvětšuje rozsah pohmožděnin (z 1 na 30,6 mm³) u zvířat, kterým byl podán roztok glukózy nebo salinický roztok a redukuje hustotu normálně se vyskytujících se neuronů v CA 1 sektoru hippocampu (z 201 na 144 buněk na mm²). Na rozdíl od předchozích autorů našli minimální neuronální ztráty v hippocampu a minimální pohmoždění nebo infarkty u hyperglykemických kontrolních skupin, kde byla navozena pouze samotná okluze arteria carotis communis, nebo samotné zhmoždění nárazem. Tato samostatně stojící zranění nebyla nepříznivě ovlivněna infuzí glukózy. (Cherian a kol. 1997)

Zvýšený výskyt neuronální smrti u diabetických potkanů podrobených celkové ischemii mozku také našel Ding a kol. (2004), a to v CA 1 s CA 2 sektoru hippocampu, hilu, gyrus dentatus, kortikální a thalamické oblasti.

Nadějným cílem léčby ischemie mozku je pozitivní ovlivnění tkáně označované jako ischemický polostín (penumbra). Zachráněním vitality buněk této oblasti, včasnou reperfuzí a farmakologickou podporou, se může docílit velmi dramatického akutního zlepšení.

Následující práce se zabývala studiem vlivu glukózy na změny v oblasti ischemického polostínu. Pokus testoval hypotézu, že intracelulární acidóza způsobí přechod potencionálně nepoškozené tkáně do stavu infarktu. Třicet vyhladovělých potkanů rozdělili do 6 skupin po pěti. Zvířata byla podrobena 4 hodinové ložiskové ischemii v přítomnosti hypoglykémie (2,8 mmol/l), střední hyperglykémie (11 mmol/l) a těžké hyperglykémie (nad 28 mmol/l) za normoxie nebo mírné hypoxie. V oblasti ischemického polostínu vedla hyperglykémie k výraznější intracelulární acidóze a k narušení NADH regenerace. Hyperglykémie zhoršuje mitochondriální funkce. To podporuje hypotézu, že vývoj acidózy ischemického polostínu je spojen s utilizací glukózy. Mimo toto zjištěné pozorování, že hypoglykémie znatelně snižuje rozsah infarktu, podporují tyto nálezy hypotézu, že kortikální acidóza vede k přechodu oblasti ischemického polostínu do infarktového ložiska. (Anderson a kol. 1999)

Také další autoři popisují, že hyperglykémie obecně zhoršuje přežití neuronů při ischemii a to zprostředkovaně přes laktátovou tkáňovou acidózu. Dále také uvádějí, že již malé rozdíly v teplotě mozku pronikavě ovlivňují ischemické následky. Oblasti

vzdálené od ischemického ložiska mohou vykazovat metabolické a funkční abnormality zvané "diaschiza", které mohou být zprostředkovány transneuronálně anebo humorálně četnými neurotransmitery, které se uvolňují během ischemie. Zatímco tedy korové oblasti se ztíženým průtokem při ložiskové ischemii vykazují ireverzibilní poškození, penumbrální oblasti vykazují nestabilitu hrozící možným poškozením. Právě tyto nestabilní oblasti je vhodné terapeuticky ovlivňovat. (Ginsberg a kol. 1990)

V posledních letech se objevují studie sledující vliv hyperglykémie za ischemických podmínek in vitro. Rytter a kol. 2003 zkoumali buněčnou kulturu myšičího hippocampu. Autoři navozovali ischemii buněk CA1 sektoru hippocampu kyslíkovou deprivací. Zjistili, že glukóza zhoršuje poškození buněk vystavených ischemii. Stejně nálezy obržel, rovněž na myšičí tkáňové kultuře hippocampu, i Cronberg a kol. 2004.

Fakt, že hypotermie příznivě ovlivňuje ischemické následky za trvání hyperglykémie, potvrzuje následující práce. Autoři provedli dvě série testů. V první sérii podrobili normotermní a hypotermní zvířata ischemii trvající 10 minut za hyperglykemických podmínek (koncentrace glukózy 20-25 mmol/l), poté následovalo období obnovy (15 hodin nebo 1 týden). Ve druhé sérii podrobili normoglykemická a hyperglykemická zvířata 15 minutové ischemii (za normální nebo snížené teploty) a přeživší zvířata byla sledována po jednotýdenní obnově. U všech normotermních hyperglykemických zvířat se rozvinuly postischemické záchvaty a smrt nastala do 24 hodin. Střední hypotermie poskytla značnou ochranu. Šest ze sedmi hypotermních zvířat podrobených 10 minutové ischemii přežilo období jednotýdenní obnovy a u žádného z nich se nerozvinuly záchvaty. Týden obnovy přežilo šest z jedenácti hypotermních zvířat podrobených 15 minutové ischemii a jen u jednoho z nich se rozvinuly záchvaty. Histologická analýza potvrdila ochranný vliv hypotermie. Experimenty s 10 minutovou ischemií a 15 hodinovou obnovou ukázaly rozvoj poškození u normotermních hyperglykemických zvířat. Hypotermie výrazně redukovala poškození ve všech zranitelných oblastech gyrus cinguli a substantia nigra pars reticularis. Protekce byla nejvýznamněji prokázána v caudoputamenu, kde u hypotermních zvířat nebyly nalezeny žádné abnormální neurony. Experimenty s 15 minutovou ischemií potvrzují předchozí nálezy, že střední hypotermie ochraňuje normoglykemická zvířata proti poškození. Výsledky ukazují, že hypotermie rovněž předchází většině poškození způsobené hyperglykemií. Nicméně za hypotermních podmínek hyperglykémie stále rozšiřuje poškození v gyrus cinguli, v mediálních, ventrolaterálních, posteriorálních jádrech thalamu a substantia nigra pars reticularis,

tedy ve strukturách specificky postihovaných za hyperglykemických normotermních podmínek. (Lundgren a kol. 1991)

Rovněž se prokázalo, že hyperglykémie u dospělých potkanů s ischemií mozku zhoršuje mozkový edém. (Song a kol. 2003)

3.4.2.2. Klinické studie

U 50% pacientů s akutním zraněním byla při přijetí k hospitalizaci diagnostikována hyperglykémie, u 25% hospitalizovaných pacientů s akutním zraněním mělo v anamnéze diabetes mellitus. (Mehta, Seth 2003)

Hyperglykemií - okolností zhoršující stav u pacientů s těžkým kraniocerebrálním traumatem - se zabývali autoři vyhodnocující data u 267 pacientů se středním a těžkým kraniocerebrálním zraněním. Jednalo se o pacienty, u kterých bylo provedeno chirurgické odstranění intrakraniálního hematomu. Byly zjištěny tyto výsledky. Pacienti s těžkým kraniocerebrálním zraněním hlavy měli vyšší sérové hladiny glukózy než ti se středním zraněním. Pacienti s následnou horší prognózou měli výrazně vyšší hladinu glukózy než ti s lepší prognózou. Pacienti se závažnějším mozkovým poraněním spojeným s horšími neurologickými následky měli hladinu krevní glukózy nad 11,1 mmol/l. V té samé skupině pacientů byl nalezen výrazný vztah mezi postoperační hladinou glukózy, pupilární reakcí a maximálním intrakraniálním tlakem během prvních 24 hodin. Analýza ukázala, že postoperační hladiny glukózy byly nezávislými ukazateli výsledků. Časná hyperglykémie se jeví významným indikátorem závažnosti poškození a spolehlivým ukazatelem neurologických následků u zranění hlavy. (Rovlias a kol. 2000) Zhoršení ischemického zranění mozku a horší prognózu pacientů v souvislosti s hyperglykemií potvrzují i další novější studie. (Mazighi a kol. 2001, Christensen a kol. 2002, Bruno a kol. 2002)

Baird a kol. (2003) zjistili, že přetrvávající hyperglykémie po ischemii mozku je nezávislým ukazatelem expanze infarktového ložiska a horšími funkčními následky. Byla prokázána korelace mezi hladinou glykémie $>$ nebo $=$ 7 mmol/l a NIHSS (National Institutes of Health of Stroke Scale) a rovněž mRS (outcome modified Rankin Scale). Studie Els a kol. (2002) také prokázala, že velikost infarktu u pacientů s ložiskovou cerebrální ischemií byla u hyperglykemických jedinců, ve srovnání s normoglykemickými pacienty, značně zvýšená a to navzdory trombolytické terapii obnovující průtok uzavřenou cévou. To, že hyperglykémie může redukovat prospěšný

účinek rekanalizace potvrzuje i Lindsberg a kol. (2004). Obdobné nálezy potvrdil i Parsons a kol. (2002). Ve studii zahrnující 63 pacientů s akutním poraněním hlavy prokázal souvislost mezi hyperglykemií a rozsáhlejší velikostí infarktového ložiska a horšími funkčními následky.

Škodlivý vliv hyperglykémie potvrzují i autoři ve své studii, kde u 41 hyperglykemických pacientů s poškozením hemisfér sledovali koncentraci specifické neuronální enolázy. Odběry prováděli mezi 12.-24. hodinou po poškození. U pacientů s poškozením mozku komplikovaným hyperglykemií (krevní glukóza nad 7 mmol/l) byly nalezeny významně vyšší hladiny specifické neuronální enolázy než u normoglykemických pacientů. Hyperglykémie byla při akutním poškození spojena se zvýšenou neuronální smrtí. (Sulter a kol. 1998)

Podobné nálezy publikovali i autoři zabývající se sledováním vztahu mezi hladinou krevní glukózy a GCS (Glasgow Coma Scale) a mortalitou u 102 kritických nediabetických pacientů přijatých na neurologicko-anesteziologickém oddělení nemocnice Niguarda v Miláně. 52 pacientů bylo přijato po subarachnoidálním krvácení (1.skupina) a 50 po akutním těžkém zranění hlavy (2.skupina). U první skupiny se vyskytla hyperglykémie u 23 případů (44,2%). Mortalita byla 30,7%. Hladiny krevní glukózy nebyly významné ve vztahu k GCS a mortalitě. Ve druhé skupině se hyperglykémie vyskytla u 24 pacientů (48%). Smrt nastala u 44% pacientů. Hladiny krevní glukózy byly významně vyšší u pacientů s GCS s hodnotou 3-5 než u pacientů s GCS s hodnotou 6 -10 a 11-15. U této skupiny byly nalezeny u zemřelých pacientů vyšší hladiny krevní glukózy než u přeživších. U všech pacientů (kromě tří) se hladiny krevní glukózy snížily na normální hladiny bez inzulínové terapie do 96 hodin. U pacientů s kraniocerebrálním zraněním se zvýšené hladiny krevní glukózy zdály být indikátorem závažnosti poškození mozku a ukazatelem mortality. (Lepore a kol. 1998) Jednoznačnou souvislost mezi hyperglykemií a zvýšeným výskytem časně i pozdní mortality potvrzuje i novější studie Williams a kol. (2002). Rovněž Takanashi a kol. (2001) potvrdil souvislost mezi hyperglykemií a závažností poranění, následky vyplývající z poranění hlavy a mortalitou. Signifikantně vyšší hladina plazmatické glukózy (11,4±0,3 mmol/l) byla nalezena u pacientů, u kterých později následovala invalidita nebo smrt. Horší klinické následky v důsledku přetrvávající hyperglykémie ukazuje i studie Baird a kol. (2003) a Jeremitsky a kol. (2005).

Důležitost monitorování krevní glukózy v souvislosti s redukcí mortality a se snížením výskytu kritických polyneuropatií byla prokázána i ve studii Nguyen, Koroshetz (2003).

Další velmi zajímavou a obsáhlou studii provedli italští vědci na skupině 351 pacientů. Cílem jejich práce bylo zhodnotit dostupné klinické hodnoty a instrumentální změny získané v akutní fázi při ložiskové cerebrální ischemii a v čase posoudit jejich individuální nebo kombinovanou váhu. Pacienti byli testováni na 48. hodině od začátku ischemického poškození. Sledováno bylo osm proměnných: věk, stav vědomí, paréza končetin, arteriální tlak, glykémie, EKG, EEG, CT hodnocení rozsahu infarktu. Mortalita a invalidita byla hodnocena 30. den. S invaliditou významně korelovaly některé proměnné: závažné parézy končetin, abnormality EEG, rozsah infarktu, stav vědomí a hyperglykémie. Proměnné, které významně korelovaly s brzkým úmrtím byly: závažnost parézy, rozsah infarktu, abnormality EEG, stav vědomí, EKG abnormality a hyperglykémie. (Finocchi a kol. 1996) Metabolické abnormality jako hyperglykémie, mírná hyperosmolalita a hyponatremie provázející ložiskovou mozkovou ischemii přispívají k vzniku epileptických záchvatů (*epilepsia partialis con.*, Paiboonpol 2005)

O vztahu mezi hyperglykemií a vznikem cerebrálního poškození při akutní ischemii hovoří studie, která se zabývá hodnocením důležitého aspektu při vzniku mozkového poškození. Touto sledovanou hodnotou je čas potřebný ke vzniku poškození. Bylo sledováno 194 pacientů přijatých během 24 hodin po začátku první klinické epizody cerebrálního hemisférického infarktu. Glykémie byla stanovena při přijetí, za 24 hodin, 48 hodin a 72 hodin. Neurologické defekty byly hodnoceny 7. den pomocí „Canadian scale“ (hodnotící stupnice podle projevů neurologického poškození). Rozsah infarktu byl určen mezi 4.-7. dnem pomocí CT. Byl nalezen významný vztah mezi rozsahem poškození a hladinou krevní glukózy při přijetí a při odběru ve 24. hodině, u pozdějších odběrů nebyl nalezen tento vztah. Analýza ukázala, že jen glykémie stanovená při přijetí byla ukazatelem spojeným s „Canadian scale“ hodnocenou 7. den po přijetí. Byl nalezen zřejmý vztah mezi hyperglykemií a závažnějším stavem infarktu, přičemž tento vztah je nejmarkantnější během první hodiny po začátku poškození. (Naveiro a kol. 1998)

Hyperglykémie provází také srdeční selhání. Hodnocení vztahu mezi neurologickými následky a koncentrací glukózy u osob, kteří přežili kardiopulmonální selhání bylo provedeno na skupině 85 pacientů. Byly sledovány proměnné, které by

mohly mít vliv na vztah mezi cirkulující koncentrací glukózy a neurologickými následky: místo selhání (během hospitalizace, mimo hospitalizaci), věk, přítomnost diabetes mellitus, délka selhání, délka trvání kardiopulmonální resuscitace (CPR), počáteční srdeční rytmus, léky podané při selhání. Z 85 sledovaných pacientů mělo 67% CPR zahájenou v době hospitalizace, u 33% byla zahájena CPR mimo hospitalizaci. Selhání trvalo u 78% méně než 5 minut. Průměrná CPR trvala 13,7 minut. 21% pacientů mělo diabetes. Průměrná koncentrace krevní glukózy po CPR byla u 80 pacientů 15,1 mmol/l. Statisticky významný vztah mezi zvýšenou koncentrací glukózy po CPR a těžkými cerebrálními následky byl prokázán pouze u malé podskupiny pacientů s CPR trvající déle než 5 minut. Tato studie tedy nepotvrzuje vztah mezi koncentrací glukózy po CPR a neurologickými následky. Tento vztah může být epifenomémem, tedy příznakem, který se objevuje u závažných cerebrálních ischemií u lidí, ale jehož výskyt není obvyklý a není nezbytně spojován s tímto onemocněním. (Steingrub a kol. 1996)

V následující studii Pentelényiho (1992) se objevuje hyperglykémie jako jeden z ukazatelů fatálních následků poškození hlavy. U 81 pacientů s poškozeným mozkem byly sledovány tyto parametry: krevní glukóza, sérový insulin, kortizol, růstový hormon, glukagon a katecholaminy. Pro dvojitou kontrolu sloužilo 32 pacientů se závažným poškozením jiné části těla (hrudník, břicho, končetiny, polytrauma) a 17 pacientů s netraumatickou lézí mozku.

U pacientů s poškozením mozku byl nalezen úzký vztah mezi změnou vědomí a hladinou glukózy. Hlubší kóma neslo s sebou vyšší a strmější hodnoty patologických hladin glukózy. Podle autorů by fatální následky mohly být u nediabetických pacientů předpovězeny tehdy, jestliže byly první den zjištěny tyto nálezy (Pentelényi 1992):

1. fluktuace krevní glukózy mezi hodnotami 5-22 mmol/l
2. hluboce snížené a neměnicí se hladiny insulinu
3. rychlý vzestup hyperglykémie nad 14 mmol/l
4. velmi vysoké hladiny kortizolu
5. snížené plazmatické hladiny epinefrinu

Ochranný vliv hyperglykémie

Nagi hovoří o sporném vlivu akutní hyperglykémie na cerebrální ischemii. Uvádí, že sporné výsledky klinických a experimentálních testů mohou být částečně vysvětleny tehdy, pokud budou jednotlivé podtypy poškození hodnoceny samostatně,

a to hovoříme-li o sledování hladiny krevní glukózy během akutního zranění. Zdá se, že hyperglykémie zhoršuje neuronální zranění během subakutní periody cerebrální ischemie, a to při nedostatku alternativního krevního zásobení. Dále se zvyšuje riziko hemorrhagie v tomto časovém intervalu. Naopak autor uvádí, že akutní hyperglykémie může ochránit neuronální tkáň před strukturálním poškozením, a to zlepšením substrátového zásobování, je-li zde zaznamenán jen střední pokles cerebrálního krevního průtoku. Tento stav je pozorován v oblasti polostínu (penumbra), a to je-li zajištěno dobré kolaterální cévní zásobení. Závěrem autor uvádí, že negativní či pozitivní vliv akutní hyperglykémie závisí na lokálním cerebrálním průtoku. (Nagi a kol. 1999)

Při sledování vlivu preischemické hyperglykémie se neprokázalo, že by hyperglykémie zhoršovala poškození mozku zhoršením kapilárního průtoku. (Li a kol. 1998). Podobný výsledek nalezneme u Kittaky, kde v závěru studie stojí, že diabetes mellitus 1. typu, nikoliv hyperglykémie, produkuje down regulaci tkáňového aktivátoru plazminogenu v kapilárách potkaního mozku. Tato redukce tkáňového aktivátoru plazminogenu je spojena se zhoršenou obnovou krevního průtoku po ischemickém infarktu, se špatnými neurologickými následky a se zvýšeným ischemickým poškozením mozku. (Kittaka a kol. 1996)

Tento bezesporu zajímavý nálezn (viz výše), že hyperglykémie sama o sobě nezhoršuje krevní průtok, však nestojí v kontroverzi k dříve citovaným experimentálním a klinickým studiím. Avšak předchozí studii (Nagi a kol. 1999), která hovoří o protektivním účinku hyperglykémie pro neuronální tkáň při zachování odpovídajícího mozkového krevního průtoku v oblasti ischemického polostínu, musíme konfrontovat s nálezy Andersona (Anderson a kol. 1999), který uvádí, že hyperglykémie vede v oblasti ischemického polostínu k výraznější intracelulární acidóze, a tedy přechodu této potenciálně nepoškozené tkáně do stavu infarktu. Vezmeme-li v úvahu, že Anderson testoval vliv hyperglykémie na oblast ischemického polostínu za stavu normoxie nebo mírné hypoxie a Nagi sledoval vliv hyperglykémie na oblast ischemického polostínu v souvislosti s mozkovým krevním průtokem, nabízí se nám další velmi zajímavý směr výzkumu vztahů: koncentrace krevní glukózy – mozkový průtok (rozhodující není ani tak zachování krevního toku jako dostupnost kyslíku; v pokusech s hypoxií se průtokové prahy zvyšovaly, když saturace kyslíkem byla nedostatečná) (Kalvach a kol. 1997) – oblast ischemického polostínu. Tvrzení Nagiho by pak mohla otevřít terapeutické možnosti zabývající se zlepšením substrátového

zásobení v tzv. oknu příležitosti (window of opportunity), které trvá pouze po určitý čas (6-8 hodin od začátku infarktu).

V tomto období je možno v konkrétním infarktovém ložisku rozlišit oblasti dosahující jednak prahu funkčního ticha, jednak již prahu selhavší natium-kaliové pumpy. Zóny buněk o zachovalé vitalitě, ale vyhaslé funkci většinou okružují budoucí malatické ložisko a jsou předmětem nadějí při léčebném úsilí.

Z klinického hlediska nelze rozeznat mezi funkcemi vyhaslými v důsledku elektronického ticha při zachovalé vitalitě a mezi funkcí vyhaslou navždy. Rozdíl v krevním zásobení jednoho a druhého prahu a vitální úrovně je pouhých 5-8 ml/100g/minutu, a přesto může mít absolutní význam pro zachování životaschopnosti dané tkáně. (Kalvach 1997)

3.4.3. Přehled hypotéz vysvětlujících mechanismus vzniku poškození mozku působením hyperglykémie při hypoxicko-ischemickém poškození mozku

1. Vznikem laktátové acidózy (Roh a kol. 1992, Ginsberg 1990, Wass, Lanier 1996, Siesjö a kol. 1996, Lindsberg a kol. 2004, Zygun a kol. 2004)
2. Snížením intracelulárního pH mozkové tkáně (Hurd a kol. 1995, Li a kol. 1995, Dempsey a kol. 1996, Osuga, Hogan 1997, Cronberg a kol. 2004)
3. Snížením obnovy ATP (Roh a kol. 1992), narušením NADH regenerace (Anderson a kol. 1990)
4. Uvolňováním volných radikálů (Lundgren a kol. 1991 b, Siesjö a kol. 1996, Lindsberg a kol. 2004), hydroxylových radikálů (Li a kol. 1999, Wei a kol. 1997), zvýšenou peroxidací lipidů (Roh a kol. 1992, Lindsberg a kol. 2004)
5. Pomalejší obnovou sodíkové homeostázy (Tyson a kol. 1996), negativním vlivem na obnovu homeostázy vápenatých iontů během časně recirkulace, redukcí vypuzování vápenatých iontů (Araki a kol. 1992, Ekholm a kol. 1995, Kagansky a kol. 2001)
6. Porušením intracelulární signální translační cesty vedoucí ke změnám genové exprese nebo syntézy proteinů; aktivací kinasového systému (MAPK, Erk, JNK) regulující buněčné funkce, aktivací endonukleázy, která je zodpovědná za fragmentaci DNA (Siesjö a kol. 1996, Li a kol. 2001 b, Lindsberg a kol. 2004, Muranyi a kol. 2005, Farrokhnia a kol. 2005)

7. Ovlivněním hematoencefalického transportu (Kawai a kol. 1998) ztrátou Na^+ gradientu endoteliálních buněk bariery krev-mozek (Kawai a kol., 1999. Lindsberg a kol 2004)
8. Zvýšením extracelulárních hladin glutamátu (Guyot a kol. 2000 a, b, Li a kol. 2000, Kagansky a kol. 2001)
9. Zvýšeným uvolňováním cytochromu C, aktivací kaspázy-3 a kaspázy-9 vedoucí k programované buněčné smrti (Li a kol. 2001 a, b, Ding a kol. 2004)
10. Zvýšením množství adhezivních molekul-1 (ICAM-1), zvýšením interleukinu-1 beta (Makimattila a kol. 2004, Ding a kol. 2005)

Tyto mechanismy spolu navzájem souvisejí.

Výše hromážděné práce ukazují na to, že hyperglykémie působící při ischemii mozku je skutečně důležitým negativním modulujícím faktorem v postižené adultní mozkové tkáni. U těchto stavů se z hlediska ovlivnění neurologické prognózy pacientů jeví důležitým bodem v terapeutickém přístupu normalizace krevní glukózy, ve snaze zabránit vzniku dalších mechanismů, které se v důsledku působení hyperglykémie objevují. Jsou to např. změna pH, snížení obnovy makroergních fosfátů, uvolňování hydroxylových radikálů, změny genové exprese, fragmentace DNA, ovlivnění hematoencefalického transportu apod.

3.5. Námelové alkaloidy

3.5.1. Charakteristika

Námelové alkaloidy zařazujeme mezi indolové alkaloidy ergolinového typu. Vyskytují se hlavně v námelu. Kromě toho byly nalezeny i v některých jiných houbách (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopodus*) a v některých zástupcích čeledi *Convolvulaceae* (*Ipomoea*, *Rivea*, *Convolvulus*).

Matečnou rostlinou námelu (*Secale cornutum*) je paličkovice nachová (*Claviceps purpurea*, *Clavicipitaceae*). Parazitující vřeckovýtrusná houba napadá semeníky trav, převážně žita.

Drogou je námel (odpočívající stadium vývoje parazitující houby). Přírodní výskyt námelu nemůže krýt jeho současnou vysokou spotřebu. Proto se žito pro získání drogy uměle očkuje. Droga se v terapii neužívá. Používají se pouze izolované a polosynteticky připravené alkaloidy.

Největší část hmoty námelu tvoří balastní látky (materiál buněčných stěn a rezervní látky). Je to především vysoký obsah (až 35%) mastného oleje, který snadno žlukne. Obsažen je fytoosterol, nazvaný podle svého výskytu ergosterolem. Vedlejšími účinnými látkami jsou tyramin a histamin. Specifickými účinnými látkami jsou alkaloidy. Strukturně nejjednodušší je skupina klavinů, bez většího praktického významu. Terapeuticky jsou nejvýznamnější deriváty D-lysergové kyseliny, na níž je vázán cyklický tripeptid (alkaloidy ergotaminové a ergotoxinové skupiny).

Všechny alkaloidy vyskytující se nativně jako deriváty kyseliny D-lysergové nesou v označení příponu -in. Při skladování drogy i v průběhu izolace alkaloidů může docházet k jejich izomerizaci na deriváty kyseliny D-isolysergové, označované příponou -inin, které jsou farmakologicky neúčinné. (Hubík a kol. 1989)

Následující přehled uvádí skupiny přírodních námelových alkaloidů.

Skupiny přírodních ergopeptidů

Sloučenina ^a	původ
Ergotaminová skupina	
ergotamin	<i>Claviceps purpurea</i>
α -ergosin	<i>C. purpurea</i> ,

	Rhizopodus nigracans
β -ergosin	Ipomea argyrophyta
ergovalin	C. purpurea
ergobin ^b	
8-hydroxyergotamin	C. purpurea
dihydroergosin	C. africana
Ergoxinová skupina	
ergostin	C. purpurea
α -ergoptin	C. purpurea
β -ergoptin ^b	
ergonin	C. purpurea
ergobutin	C. purpurea
Ergotoxinová skupina	
ergocristin	C. purpurea
ergogalin	C. purpurea
α -ergocryptin	C. purpurea
β -ergocryptin	C. purpurea
ergocornin	C. purpurea
ergobutyryn	C. purpurea
5-epi- β -ergocryptin	C. purpurea
ergoladinin	C. purpurea
8 α hydroxy- α -ergocryptin	C. purpurea
Ergoanninová skupina	
β , α -ergoannin	C. purpurea

^aNázvy isomerních derivátů kyseliny isolysergové charakterizované koncovkou -inin byla zde pro zjednodušení vynechána.

^tNenacházejí se v přírodě.

(Flieger a kol. 1997)

3.5.2. Historie námelových alkaloidů

První zmínky o náhodném použití námelových alkaloidů v kontaminovaných obilninách jsou starší než 2000 let a popisují epidemie otrav námelem (ergotismus). Mezi nejznámějšími projevy otravy patří demence s živými halucinacemi, dlouhodobé cévní spasmy, které mohou mít za následek gangrény. Dalšími projevy jsou spasmy hladké svaloviny dělohy, které mohou v průběhu gravidity vyústit do potratu.

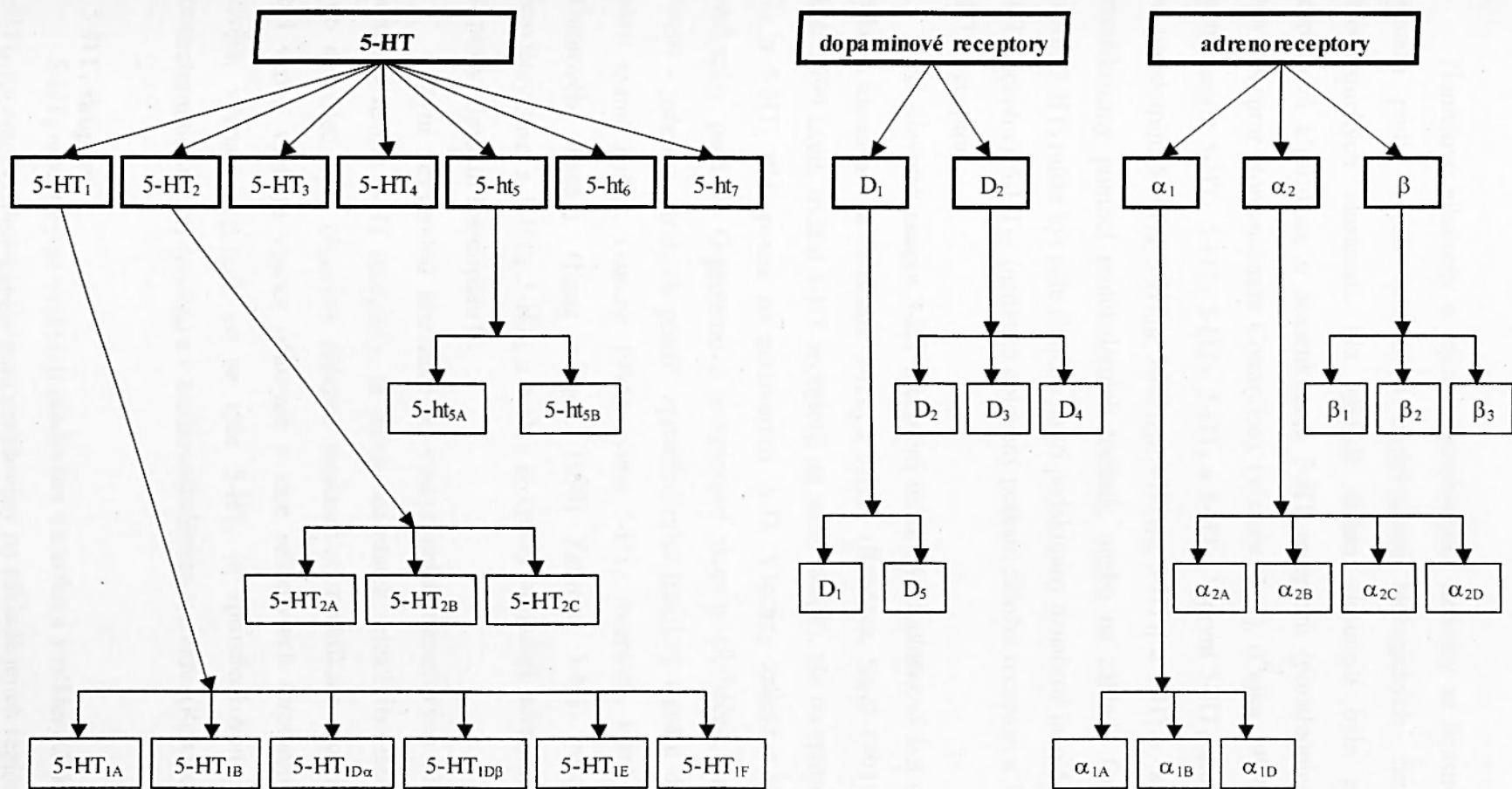
Podle svatého, jehož přímluva byla vyhledávána při palčivé bolesti z vazospastické ischemie se ve středověku otravy námelem nazývaly „oheň svatého Antonína“. (Katzung a kol. 1994)

Poprvé byla droga popsána v botanickém spise Adama Lonicera ze 16. století. Dlouho byla používána jen jako lidový prostředek. Ještě koncem 18. století lékaři její používání výslovně zakazovali, zřejmě byla zpozorována malá stabilita drogy a tím i její proměnlivá účinnost, takže spolehlivé dávkování bylo nemožné. (Hubík a kol. 1989)

3.5.3. Účinky námelových alkaloidů

Námelové alkaloidy dokáží ovlivnit α -adrenergní, dopaminergní a 5-HT receptory (serotoninové receptory). (Katzung a kol. 1994) Nicméně některé účinky mohou být zprostředkovány dalšími mechanismy. (Rang a kol. 1999)

Na α -adrenergní a 5-HT receptory mohou působit jako agonisté, parciální agonisté nebo antagonisté, na dopaminové receptory v centrálním nervovém systému působí jako agonisté. Některé látky ze skupiny námelových alkaloidů mají vysokou afinitu k presynaptickým receptorům, zatímco jiné ovlivňují selektivněji receptory postsynaptické. (Katzung a kol. 1994, Lincová a kol. 2002)



Obr. č. 1: Schematické znázornění rozdělení serotoninových, dopaminových a adreno - receptorů (Čejka, 1999)

3.5.3.1. Interakce s 5-HT receptory

Námelové alkaloidy a jejich semisyntetické deriváty se účastní biologických pochodů podle svých rozdílných molekulárně biologických, farmakologických a biochemických vlastností. Na základě těchto vlastností byla zavedena nová receptorová klasifikace a nomenklatura 5-HT receptorů (prostřednictvím Serotonin Club Receptor Nomenclature Committee), (viz obr. č. 1), (Čejka 1999), která sestává z pěti skupin: 5-HT₁, 5-HT₂, 5-HT₃, 5-HT₄ a 5-HT₅. V první 5-HT₁ skupině se nachází šest podskupin: 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1D α} , 5-HT_{1D β} , 5-HT_{1E} a 5-HT_{1F}, které mohou být identifikovány pomocí molekulárních technik, anebo na základě farmakologických kritérií. 5-HT₂ může být dále členěna na tři podskupiny označené jako 5-HT_{2A} (klasický 5-HT₂ receptor), 5-HT_{2C} (nedávno objevený potkaní děložní receptor, a 5-HT_{2C} (dřívější 5-HT_{1C} receptor).

Pět hlavních skupin 5-HT receptorů může být doplněno o dva další receptory, nedávno klonované a označené 5-HT₆ a 5-HT₇. (Řeháček, Sajdl 1994) Rovněž Rang a kol. 1999 uvádí třídění 5-HT receptorů na sedm skupin, ale receptorové skupiny 5-HT₁ a 5-HT₂ třídí pouze na podskupiny A-D. Všechny známé 5-HT receptorové podskupiny patří do G-proteinové receptorové skupiny (Řeháček, Sajdl 1994), (G-protein - jeden z „druhých poslů“ zprostředkující translaci signálu do biologického efektu uvnitř buňky, Ganong 1995) vyjma 5-HT₃ receptorů, které jsou ligandem kationtového kanálu. (Rang a kol. 1999) Zatímco 5-HT₁ receptory inhibují adenylátcyklasu a 5-HT₄, 5-HT₆ a 5-HT₇ receptory stimulují adenylátcyklasu, 5-HT₂ receptory stimulují fosfolipásu C.

Hlavní nevýhodou přirozeně se vyskytujících námelových alkaloidů, pokud bereme v úvahu 5-HT receptory, je jejich nedostatek selektivity. Během posledních dvou desetiletí byly objeveny důležité strukturální modifikace ergolinové molekuly a byl veden výzkum vysoce účinných a více selektivních serotoninových ligandů. Největší význam ergolinů, co se týče 5-HT, je zprostředkován jejich účinkem v centrálním nervovém systému a v kardiovaskulárním systému. (Řeháček, Sajdl 1994)

A. 5-HT₁ skupina

5-HT₁ receptory se vyskytují především v mozku a v některých krevních cévách (5-HT_{1D} receptory). Podskupiny jsou rozlišovány na základě jejich regionální distribuce a farmakologické specifity. Účinek zprostředkovaný touto receptorovou skupinou

spočívá v inhibici presynaptické části receptorů a to prostřednictvím inhibice adenylát cyklázy. Způsobují neurální inhibici a vazokonstrikci. (Rang a kol. 1999)

A.a. 5-HT_{1A} receptory

S částečně agonistickými vlastnostmi může být použito nejvíce léků ze skupiny námelových alkaloidů pro CNS aplikaci. Klinický zájem o 5-HT_{1A} receptorové ligandy je vztahován k domnělé spoluzodpovědnosti 5-HT_{1A} receptorů na vzniku úzkosti a deprese. Ergoliny tak významně reagují s 5-HT_{1A} receptory, ale relativně neselektivně. Do této skupiny patří dietvlamid kyseliny lysergové (LSD), metergolin a lisurid.

A.b. 5-HT_{1B} receptory

Dihydroergotamin je neselektivní ergopeptin, ukazující vysokou afinitu pro potkaní 5-HT_{1B} receptor, který je druhově homologický lidskému 5-HT_{1Dβ} receptoru. (Adham a kol. 1994)

A.c. 5-HT_{1D} receptory

Porucha na úrovni 5-HT_{1D} receptorů se může projevit rozmanitými klinickými problémy (např. migréna, cerebrální vasospasmus a koronární vasospasmus). Dvě lidské 5-HT_{1D} podskupiny, domněle nerozeznatelné v jejich farmakologických vlastnostech mohou být označeny: 5-HT_{1Dα} a 5-HT_{1Dβ}. Ergoliny jako jsou lysergol, dihydroergotamin, metergolin a methysergid jsou neselektivními ligandy s vysokou afinitou pro 5-HT_{1Dα} a 5-HT_{1Dβ} receptory. Methysergid, který byl jednou z neúčinnějších sloučenin v těchto těsně příbuzných podskupinách, ukazuje 7x vyšší afinitu k 5-HT_{1Dα} než pro 5-HT_{1Dβ} receptory. Například ergotamin a dihydroergotamin ukazují vyšší agonistickou aktivitu než sám 5-HT receptor v lidské a. basilaris. Jako konstriktor lidských koronárních arterií, králičí a. basilaris, a. carotis communis a safénových vén byl ergotamin asi 100x více účinný než antimigrenozní lék sumatriptan. Mnoho ergolinů stimuluje cévní 5-HT₁ – „like“ receptory nacházející se v lidských mozkových a koronárních arteriích a mozkových arteriích skotu jež se podobají 5-HT_{1Dβ} podskupině. Je mimo pochyby, že ergoliny jsou neúčinnějšími agonisty v cévních 5-HT₁ – „like“ receptorech, buď v 5-HT_{1Dα} nebo v 5-HT_{1Dβ} typu. Na druhé straně cévní účinek ergotaminu a dihydroergotaminu na karotidy u prasat naznačuje, že vazokonstrikční odezva na tyto ergoliny není výlučně zprostředkována prostřednictvím 5-HT₁ – „like“ receptorů, ale navíc prostřednictvím neznámých receptorů. Stejný fenomén byl také nalezen v králičích safénových vénách a v a. iliaca morčete, kde byla kontrakce navozena ergometrinem a jeho semisyntetickým derivátem

methylergometrinem. Během bifázického koncentračního účinku byla první fáze zprostředkována prostřednictvím 5-HT₁ – podobných receptorů a druhá fáze prostřednictvím neznámých receptorů. Ačkoliv ergometrin ukazuje pouze slabou aktivitu v α-adrenoreceptorech, provokuje spasmus koronárních arterií u pacientů s Prinzmetalovou anginou pectoris a je užíván k diagnóze tohoto onemocnění. Methysergid je užíván v profylaxi migrény. Primární metabolit methylergometrin může zprostředkovat antimigrenózního účinek léku methysergidu. Povšechně vzato ergometrin a methylergometrin ukazují oba vyšší afinitu a účinnost než methysergid v cévních 5-HT₁ – „like“ receptorech. Ergometrin a ergotamin způsobuje v lidských koronárních artériích silný, ale velmi pomalý rozvoj kontrakce. Proto výskyt vedlejších účinků na srdce v léčbě migrény je více pravděpodobný při léčbě nonselektivní antimigrenózní látkou ergotaminem než více selektivním 5-HT_{1D} receptorovým agonistou sumatriptanem. (Beer a kol. 1994) 5-HT_{1D} receptory jsou hojně vyjádřeny v substantia nigra a basálních gangliích, kde regulují buňky obsahující dopamin a uvolňují dopamin z axonálních zakončení. (Hardman a kol. 2001)

A.d. 5-HT_{1E} receptory

Nejrozdílnější rys mezi 5-HT_{1D} receptorem a nedávno objeveným 5-HT_{1E} receptorem je jeho relativně nízká afinita k karboxamidotryptaminu a ergotaminu. 5-HT_{1E} receptor byl zjištěn pouze v mozku, kde pravděpodobně hraje roli specifického receptoru. (Beer a kol. 1994)

A.c. 5-HT_{1F} receptory

Nedávno objevený 5-HT_{1F} receptor je velmi shodný s 5-HT_{1E} receptorem a byl nalezen v mozku, děloze a mesenteriu. Vysoká afinita antimigrenózního léku sumatriptanu k této podskupině indikuje možnou roli 5-HT_{1F} a 5-HT_{1D} receptorů v migréně. Tato myšlenka je podporována agonistickým profilem ergolinů: lysergidu, methylergometrinu a methysergidu, které ukazují vysokou afinitu a účinnost na 5-HT_{1F} receptory (v porovnání s sumatriptanem).

B. 5-HT₂ skupina

5-HT₂ se vyskytují v CNS a na mnoha periferních místech (krevní cévy, autonomní neurony). Účinky na neuronální tkáň a hladkou svalovinu jsou excitační. Působení je zprostředkováno ovlivněním fosfolipázy C a inositol (IP₃) fosfátové cesty. (Rang a kol. 1999)

B.a. 5-HT_{2A} skupina

Schopnost mnoha 5-HT_{2A} antagonistů (př. ritanserin) blokovat oba 5-HT_{2A} a 5-HT_{2C} receptory, které mají strukturální a farmakologické podobnosti, může být klíčovým faktorem pro terapeutické užití. V terapeutické indikaci se udávají v léčbě CNS onemocnění zahrnující depresi, úzkost, schizofrenii, sexuální poruchy. Ostatní látky (např. risperidon) mají smíšené 5-HT_{2A}, D₂ dopaminergní blokující vlastnosti a jsou popsány jako neuroleptika. V kardiovaskulárním systému mají schopnost reagovat jako 5-HT_{2A} antagonisté, zde inhibují destičkovou agregaci indukovanou 5-HT receptory. Ta je zprostředkována destičkovou 5-HT_{2A} receptorovou stimulací, čímž blokuje přímý kontraktilní účinek v cévní hladké svalovině. Tímto se stává kandidátem pro léčbu ischemické choroby srdeční.

Interakce ergolinů jako je methysergid, metergolin a mesulergin s cévními 5-HT receptory, které jsou 5-HT₁ – podobného typu, 5-HT_{2A} typu nebo smíšeného z obou dvou typů, je komplexní, poněvadž ergoliny se chovají jako parciální agonisté v 5-HT₁ – podobných receptorech a jako antagonisté v 5-HT_{2A} receptorech. Při výzkumu non-ergolinového 5-HT_{2A} antagonisty ketanserinu a ergolinového 5-HT_{2A} antagonisty methysergidu se ukazuje, že ketanserin projevuje vysokou afinitu pro 5-HT_{2A} receptory, nízkou afinitu pro 5-HT₁ receptory, ale i znatelnou afinitu pro α_1 receptory. V kontrastu s tím má neselektivní 5-HT₂ antagonistu methysergid zanedbatelnou afinitu pro α_1 receptory. Nevýhodou klasických 5-HT₂ antagonistů je jejich nedostatečná specifita a selektivita. Např.: non-ergolinový 5-HT₂ receptorový antagonist ketanserin a mianserin reagují s α_1 receptory a histaminovými receptory, kdežto ergolinové 5-HT₂ receptorové antagonisté interagují s dopaminovými receptory (např. LSD, metergolin a mesulergin) a nebo zanedbávají rozlišení mezi 5-HT₁ a 5-HT₂ receptory (např. LSD, metergolin a methysergid). Proto další výzkum více specifických a selektivních 5-HT₂ receptorových antagonistů je velmi žádoucí.

Sloučeniny s vysokou antagonistickou aktivitou pro cévní 5-HT₂ receptory a zanedbatelně blokující α_1 adrenergní, histaminové a dopaminové receptory (1-isopropyldihydrolysergová kyselina, estery, LY 53857 a sergolexol a aminy amesergid a LY 215840) ukazují vyšší metabolickou stabilitu in vivo, než sloučeniny podávané dříve. LY 53857, sergolexol a amesergid významně blokují 5-HT₂ receptory na obou typech krevních cév a na destičkách, a takto tedy inhibují 5-HT-stimulovanou destičkovou agregaci. LY 53857 a amesergid inhibují 5-HT-indukovanou agregaci

králičích destiček a LY 215840 je účinný na králičích a lidských destičkách. Ačkoliv LY 53857 antagonizuje centrální i periferní 5-HT_{2A} receptory, nesnižuje krevní tlak u spontánně hypertenzivních potkanů. Podobný výsledek, bez efektu na krevní tlak, byl nalezen u sergolexolu, amesergidu a LY 215840. Z toho vyplývá, že při redukcí krevního tlaku není vhodná blokáda 5-HT_{2A} receptorů. Sergolexol se nedávno ukázal neefektivní pro profylaxi migrény, poněvadž stejně účinně blokuje jak 5-HT_{2C}, tak 5-HT_{2A} receptory. Toto hovoří proti nedávno předložené teorii, že migréna je zprostředkována pomocí stimulace 5-HT_{2C} receptorů. Amesergid, který vykázal více účinnou sexuální odezvu potkaních samců než LY 53857 nebo sergolexol, může být užitečný v léčbě sexuálních dysfunkcí. Rozšíření sexuálního chování potkaních samců pomocí amesergidu může být také přičítáno interakci této sloučeniny s 5-HT_{2C} receptory.

Nejvýznamnější využití amidů kyseliny lysergové, pro jejich spolehlivé působení, je vztaženo k jejich silnému účinku na kontraktilitu hladké svaloviny dělohy. Ergometrin a methylergometrin jsou často užívány k léčbě krvácení. Funkční studie naznačují, že stimulační účinek částečného agonisty ergometrinu v potkaní děloze je zprostředkován 5-HT_{2A} receptory, jenž je způsobený blokadou pomocí methysergidu a non-ergolinového antagonisty ICI-169,369. Další studie ukazují, že účinek ergometrinu v těchto tkáních je nezávislý na 5-HT receptorech. Tento rozpor čeká stále na objasnění. (Eich, Pertz 1994) Tyto poznatky zatím nenalezly klinického uplatnění. (Martindale 1999)

B.b. 5-HT_{2B} receptory

Farmakologický profil HT_{2B} receptoru byl získán pomocí afinity mnoha serotoninergních sloučenin obsahujících ergoliny (např. methysergid, metergolin, mesulergin a LY 53857). Tato data společně s farmakologickými charakteristikami poskytly jasný důkaz o tom, že žaludeční receptory jsou odlišné od 5-HT_{2A} a 5-HT_{2B} receptorů.

B.c. 5-HT_{2C} receptory

Základní podobnosti mezi "5-HT_{1C} receptorem" a 5-HT_{2A} se týkají jejich molekulárních, biochemických a farmakologických vlastností. 5-HT_{1C} receptor byl nedávno zařazen jako člen do 5-H₂ skupiny a nyní je nazýván 5-HT_{2C}. Vazebné umístění 5-HT_{1C} bylo původně nalezeno v plexus chorioideus. Nedostatek selektivních agonistů a antagonistů pro 5-HT_{2C} receptor překážel objasnění účinkům v CNS a v kardiovaskulárním systému. Ergoliny jako je 5-HT_{2A} antagonista mesulergin

a neselektivní antagonisty metergolin mají rovněž vysokou afinitu pro 5-HT_{2C} receptor. V CNS neselektivní 5-HT_{2C/A} antagonisté ukazují anxiolytický profil, kdežto selektivním 5-HT_{2A} antagonistům chybí produkce anxiolytického účinku. To tedy může naznačovat, že úzkost je zprostředkována bloádou 5-HT_{2C} receptorů. Další důkaz pro spoluzodpovědnost 5-HT_{2C} receptorů na vzniku úzkosti byl proveden pomocí LY 53847, jehož 6x větší selektivita pro 5-HT_{2C} receptor než pro 5-HT_{2A} receptor může odpovídat za jeho vysoký anxiolytický účinek. 5-HT_{2C} receptory mohou také hrát důležitou roli v etiologii migrény, poněvadž účinný 5-HT_{2C} receptorový agonista m-chlorophenylpiperazin (m-CPP) způsobuje bolest hlavy podobnou migrenózní bolesti. V důsledku toho můžeme konstatovat, že látky, které předcházejí vzniku migrény, tak mohou činit bloádou 5-HT_{2C} receptorů. Překvapivé je, že doposud nejvíce účinnými antimigrenózní léky jsou 5-HT_{2C} agonisté ergotamin a dihydroergotamin. Na druhé straně produkuje ergotamin a dihydroergotamin bolest hlavy, a to tehdy podáme-li tyto léky ve vyšší dávce. To může vyplývat z dostatečné mozkové penetrace při vysoké dávce a aktivace mozkových 5-HT_{2C} receptorů. Existence 5-HT_{2C} receptorů v kardiovaskulárním systému, které zprostředkují relaxaci, byla prezentovaná nedávno. Cerebrální vasodilatace prostřednictvím relaxačních 5-HT_{2C} receptorů může pravděpodobně vysvětlovat nepříznivou reakci - bolest hlavy (porovnáváno s dihydroergotoxinem a bromokriptinem). (Pertz, Eich 1999)

C. 5-HT₃ skupina

Receptory této skupiny se nacházejí především v periferním nervovém systému, obzvláště v nociceptivních aferentních neuronech a neuronech inervujících střevo, v CNS (area postrema) a v prodloužené míše (centrum pro zvracení). Účinky těchto receptorů jsou excitační a jsou přímo spojeny s ovlivněním membránových iontových kanálů. Fyziologická role těchto receptorů není známa, snad mohou sehrávat určitou roli v patogenezi migrény a to excitací vaskulárních sensorických zakončení. (Rang a kol. 1999) Existuje velmi málo informací o interakcích ergolinů s 5-HT₃ receptory.

D. 5-HT₄ skupina

Tyto receptory se nacházejí v mozku a v periferních orgánech, jako jsou: gastrointestinální trakt, močový měchýř a srdce. Účinek zprostředkovaný těmito receptory je excitační, dochází k zvýšení střevní motility. (Rang a kol. 1999) I o této skupině existuje velmi málo informací o interakcích ergolinů s 5-HT₄ receptory. Metergolin, mesulergin a methysergid vykazují pouze nízkou afinitu k 5-HT₄ receptorům.

E. 5-HT₅ skupina

Nedávno byly v myším a potkaním mozku objeveny 5-HT (G-proteinové) receptory s pozoruhodnými vlastnostmi, které byly označeny 5-HT_{5A} a 5-HT_{5B}. Pořadí aminokyselin a farmakologický profil byly dostatečně odlišné od ostatních známých 5-HT receptorů. Protože 5-HT_{5A} a 5-HT_{5B} receptory vykazují vysokou afinitu k ¹²⁵I/LSD, kompetice pro tuto vazbu byla užita k zavedení farmakologického profilu obou typů. Profil byl, jak se očekávalo, částečně podobný. 5-HT_{5A} a 5-HT_{5B} receptory vykazují vysokou afinitu pro ergotamin a methysergid. Funkční roli těchto receptorů zbývá ještě ustanovit.

F. 5-HT₆ skupina

Nedávno objevený potkaní 5-HT₆ receptor je lokalizován výlučně v CNS (corpus striatum, různé limbické a kortikální regiony). Kompetici s vysokou afinitou pro ¹²⁵I/LSD vazbu vykazuje řada ergolinů např. lisurid, dihydroergotamin, 2-Br-LSD, pergolid, metergolin a lergotril, dále vysokou afinitu vykazují tricyklická antipsychotika a antidepressivní léky jako je clozapin, amoxipin a amitriptylin. Což naznačuje, že 5-HT₆ receptory mohou hrát roli v těžkých neuropsychiatrických onemocněních, kde dochází k zapojení serotinergního systému.

G. 5-HT₇ skupina

Třebaže 5-HT₇ a 5-HT₆ receptory, oba pozitivně spojené s adenylátcyklasou, vykazují vysokou afinitu k ergolinům (např. LSD, lisurid, metergolin a dihydroergotamin) tak i k tricyklickým antidepressivním lékům (clozapin, loxapin, amitriptylin), jejich podobnost je omezena na méně než 50%. 5-HT₇ receptor, který vykazuje podobnou, ale přesto odlišnou farmakologii než 5-HT₆ receptor, byl nalezen nejen v mozku, ale také v periferních tkáních včetně koronárních artérií. Farmakologický profil 5-HT₇ receptoru a tkáňová distribuce indikují možnou roli pro tento receptor jako receptor, který zprostředkuje relaxační účinek v krevních cévách. (Pertz, Eich 1999)

3.5.3.2. Interakce s dopaminergními receptory

Díky agonistické aktivitě na dopaminergních receptorech jsou ergoliny rovněž užívány jako antiparkinsonika a inhibitory uvolňování prolaktinu. (Lincová a kol. 2002) Znalost existence mnoha dopaminergních receptorů a jejich lokalizace v rozdílných tkáních je důležitá pro porozumění toho, jakým způsobem dopaminergní činitelé

dosahují svého terapeutického efektu a jakým mechanismem vznikají nepříznivé reakce. (Eich, Pertz 1994) Jsou to nežádoucí účinky jako nauzea, posturální hypotenze, zmatenost až psychóza s halucinacemi, dyskineze, které vznikají na základě dopaminergního působení jak na periférii, tak v CNS. (Lincová a kol. 2002) Na základě biochemických a farmakologických studií dopaminergních receptorů byly historicky rozděleny na dva hlavní podskupiny D₁ a D₂ (viz obr. č. 1). Molekulárně-biologické techniky upravily tento obraz dvou dopaminergních receptorů a definovaly 6 isoform, které mohou být rozděleny na D₁ – „like“ (D₁ a D₅) a D₂ – „like“ (D_{2(short)} a D_{2(long)}), D₃, D₄) podskupiny na základě jejich strukturálních a farmakologických vlastností. D₁ – „like“ a D₂ – „like“ podskupiny objevených receptorových isoform odpovídají D₁ a D₂ receptorům původní receptorové klasifikace. D₁ a D₅ (oba pozitivně reagují s adenylátcyklásou) a D₂ (negativně reaguje s adenylátcyklásou) patří ke G-proteinové superrodině. Hlavní receptorové podskupiny jsou D₁ a D₂; kromě neostriata, té mozkové oblasti, kde je dopamin důležitý pro kontrolu motorických funkcí.

D₂ receptor je ve velkém množství lokalizován v glandula pituitaria. Na druhé straně, hlavní lokalizace D₃ receptorů se nachází v limbickém systému mozku a s velmi malým výskytem v neostriatu. Což ukazuje důležitost role D₃ receptorů v kontrole behaviorální, emoční stránky. D₄ receptor je rozmístěn v mozku v nižším množství a ve vyšší koncentraci v kardiovaskulárním systému. Proto tedy může být D₄ receptor vzat v úvahu jako periferní D₂ podobný receptor.

Ergoliny pravděpodobně odkrývají svůj farmakologický profil skrze stimulaci neostriálních D₁ a D₂ receptorů, kdežto jejich inhibiční účinek na uvolňování prolaktinu z předního laloku glandula pituitaria může být zprostředkován skrze stimulaci D₂ a D₄ receptorů. Parkinsonismus je způsobený ztrátou dopaminergní neurogení inervace striata. Předpokládá se, že terapií parkinsonismu může být směsice D₁/D₂ agonistů, kde chybí D₃, D₄ a D₅ afinita, kdy bude facilitována motorická funkce pomocí udržování rovnováhy mezi D₁ receptorovou stimulací bez „přímé“ neostriální cesty a D₂ inhibicí skrz „nepřímou“ neostriální cestu. Schopnost zlepšení mají D₂ – „like“ agonisté, jako je bromokriptin a lisurid. Užijí-li se ve spojení s L-DOPA jako prekurzorem dopaminu, který stimuluje neostriální D₁ a D₂ receptory, zajistí tím podporu pro D₁ a D₂ receptorové obsazení v léčbě parkinsonismu.

Nejprobádanějšími ergoliny s dopaminergní aktivitou jsou bromokriptin, lisurid, ergotril a pergolin. Lisurid a ergotril jsou považovány za D₂ – „like“ receptorové agonisty s antagonistickou aktivitou v D₁ receptorech, kdežto bromokriptin se zdá být

relativně selektivní v D_2 – „like“ receptorech. Lisurid postrádá specifitu pro dopaminové receptory. Máme pouze málo informací o interakcích ergolinů s receptorovými isoformami D_1 - D_5 . Např. bromokriptin ukazuje srovnatelnou afinitu pro obě D_2 a D_3 polohy, kdežto pergolin ukazuje 10x větší preferenci k D_3 , než k D_2 poloze. Interakce bromokriptinu a pergolinu s D_3 receptory může být zodpovědná za nepotřebný vedlejší účinek na psychiku (např. zmatenost, halucinace), které se objevily při léčbě těmito léky.

Nyní ještě úkaz, který není přímo vztažený k podskupinám, ale týká se ergolinů vykazujících částečný D_2 – „like“ receptorový agonismus. Jde o CF 25-397 a tergurid (trans-dihydrolisurid). Jestliže mesostriální dopaminergní neurony jsou v relativně nízké koncentraci nebo chybí (jako u parkinsonismu), pak tyto parciální agonisté mají tu výhodu, že jsou pomocí dopaminových receptorů rozpoznáváni jako úplní agonisté. Na druhé straně, D_2 – „like“ receptory ne-striátového systému zprostředkovaná nauzea a zvracení, může zůstat neaktivována. Z toho pak vyplývá, že užití částečného agonisty může vést k lepší rovnováze mezi terapeutickými zásahy a nežádoucími účinky léku. (Riederer a kol. 1986, Eich, Pertz 1994, Akai a kol. 1995)

3.5.3.3. Interakce s adrenoreceptory

Ergolinové sloučeniny vykazují komplexní farmakologii. Tyto léky jsou účinné na 5-HT receptorech, dopaminových receptorech a adrenoreceptorech. Činnost námelových alkaloidů na adrenoreceptorech byla dobře prozkoumána během několika posledních let. Proto uvádíme pouze některé hlavní aspekty účinku ergolinů na adrenoreceptorech. (Pertz, Eich 1999)

Námelové alkaloidy jsou nejdéle používanou skupinou neselektivních alfy-sympatolytik. Protože mají i jiné vlastnosti (ovlivnění receptorů pro dopamin a serotonin) jsou využívány především v jiných než adrenolytických indikacích. Nejvýznamnější α -adrenolytické účinky mají z námelových alkaloidů polosyntetické dihydrované námelové alkaloidy dihydroergotamin, dihydroergotoxin a dihydroergokristin. (Lincová a kol. 2002)

Ve srovnání s ergopeptinovými sloučeninami jako je ergotamin, dihydroergotamin a dihydroergotoxin jsou aminy kyseliny lysergové jako je ergometrin, methysergid a methylergometrin pouze slabě aktivní na α receptoru. Na druhé straně,

vysoce komplexní farmakologické účinky LSD jsou výsledkem její interakce ne pouze s 5-HT receptory a dopaminergními receptory, ale i s α_1, α_2 a β adrenoreceptory v CNS.

Ergoliny jako je bromokriptin, lisurid a lergotril, které hrají důležitou roli v léčbě parkinsonismu a inhibici sekrece prolaktinu způsobné jejich dopaminergní aktivitou, projevují také vysokou afinitu na α adrenoreceptorech.

Lisurid jako antagonist v β adrenoreceptorech příštítné žlázy, je pouze nepatrně méně účinný než propranolol, kdežto bromokriptin a lergotril jsou na β adrenoreceptorech v této tkáni inaktivní. To můžeme brát jako další důkaz toho, že chybí ergolinové sloučeniny, které by specificky reagovaly s monoaminovými receptory. (Eich, Pertz 1994, Katzung 1994, Pertz, Eich 1999)

3.4.3.4. Antimikrobiální a protinádorový účinek námelových alkaloidů a jejich derivátů

Námelové alkaloidy a jejich deriváty jsou schopné inhibovat růst některých tumorů, závislých na hormonální stimulaci, prostřednictvím inhibice uvolňování prolaktinu z glandula pituitaria. Terapie prolaktinomu, adenomu této žlázy a ostatních prolaktin produkujících tumorů např. pomocí bromokriptinu nebo lisuridu, je klinicky významná. (Eich, Pertz 1994) Prolaktinomy jsou totiž jediné expanzivní procesy hypofýzy, kde je léčbou první volby léčba medikamentózní, a to dopaminergními agonisty. Operační a radiační terapie se většinou rezervuje jen pro ty nemocné s prolaktinomy, kteří jsou na tuto léčbu rezistentní nebo ji špatně tolerují. (Klener a kol. 2001) Tito autoři uvádějí v terapii prolaktinomu tyto dopaminergní agonisty: tergurid, bromokriptin a kabergolin. Jediným přípravkem, který není ergotaminovým derivátem je quinagolid.

Inhibice uvolňování prolaktinu je zprostředkována pomocí stimulace dopaminových D_2 – podobných receptorů. Později byla objevena i antimikrobiální aktivita námelových alkaloidů klavínového typu. (Eich, Pertz 1994, Ciccarelli, Camanni 1996)

Antimikrobiální účinek

Výzkum transformace rozdílných námelových alkaloidů na počátku 80. let vedl k pozorování, že přidání agroklavinu ke kultuře *Streptomyces purpuraceus* zapříčinilo zřetelný nárůst inhibičního účinku. Účinek agroklavinu může být zvýšen pomocí hydrogenace v 8, 9 pozici. 1-alkyl a 6-alkyl deriváty festuklavinu ukázaly další zvýšení

jeho účinku. Což se ukázalo být pravdivé i pro lidské kmeny patogenních bakterií. Například 6-allyl-6-norfestuklavin ukazuje inhibiční aktivitu proti *Staphylococcus aureus* (MIC:30µg/ml). 1-propyl-6-norfestuklavin byl aktivní proti *Escherichia coli* (MIC:60µg/ml). Na druhé straně přírodní agroklavin a festuklavin ukázal pouze mírný inhibiční účinek. Více či méně silná bakteriotoxická aktivita byla také nalezena pro skupiny klavinových derivátů v mutagenních studiích s rozdílnými kmeny *Salmonella typhimurium* a jednoho kmene *Escherichia coli*. V kontrastu k pozoruhodným účinkům některých klavinových derivátů na růst bakterií, byl nalezen odlišný vliv na fungi. Kvasinkám podobný *Saccharomyces uvarum* nebo patogenní *Candida albicans* i *Blakeslea trispora* nebyly inhibovány agroklavinem nebo jeho deriváty. Pouze skromný účinek se ukázal u některých derivátů v experimentech s *C. albicans*. (MIC: 250-500µg/ml). (Eich, Pertz 1999) 6-allyl-6-norfestuklavin a 1-propyl-6-norfestuklavin vykazují antibiotickou aktivitu in vitro proti *C. albicans*. (Eich, Pertz 1994)

Cytostatický účinek agroklavinu a festuklavinu

Užití L5178y myšního buněčného lymfomu ukázalo, že agroklavin a festuklavin jsou důležití cytostatičtí činitelé in vitro. Jejich EC₅₀ hodnoty (6,3 µM a 7,1 µM) byly porovnatelné s EC₅₀ hodnotami terapeuticky užívaného cytostatického alkaloidu kamptothecinu (7,2 µM). Ostatní přírodní 6,8 – dimethylergoliny strukturálně příbuzné k agroklavinu (lysergin, isolysergin, setoklavin, isosetoklavin) a ostatní přírodní 6,8 – dimethylergoliny strukturálně příbuzné festuklavinu (pyroklavin, costaclavin) byly inaktivní.

Agroklavin a festuklavin vykazují jedinečnou biologickou aktivitu. Agroklavin jako prekurzor v biosyntéze derivátů kyseliny lysergové v *Claviceps purpurea*, je hlavní alkaloid v časném stadiu rozvíjení sclerotia, může být užitečný jako protektivní antimikrobiální a cytostatický činitel v této bezbarvé, jemné a vlhké myceliální fázi.

Agroklavin a festuklavin – potenciální námellové alkaloidy vhodné pro vývoj antitumorózních léků

Agroklavin a festuklavin v pokusech ukazují, tak jako ostatní námellové alkaloidy, interakce s α-adrenoreceptory, 5-HT receptory a dopaminergními receptory jako agonisté, antagonisté nebo částeční agonisté.

Pro vývin nových klavinů jako důležitých antitumorózních činitelů jsou důležité tyto čtyři body:

U nově nalezených sloučenin se zvyšující se cytostatickou aktivitou in vitro je nutné sledovat vztah mezi změnami ergolinového jádra a strukturálně podmíněnou aktivitou.

Je nutné se zaměřit na vývoj aktivních sloučenin se zvýšenou metabolickou stabilitou, poněvadž ergoliny jsou obvykle metabolizovány velmi rychle (se zřetelem k first pass effect).

Rozdíl mezi antineoplastickými a mutagenními aktivitami, objevený nedávno, není prvořadý pro mechanismus účinku.

4. Je nutné se zaměřit na snížení afinity aktivních sloučenin pro neurotransmiterní receptory (zmíněné výše) za předpokladu, že cytostatický účinek těchto sloučenin nemá základ v interakci s některými z těchto receptorů. V opačném případě nejsou klaviny s cytostatickým účinkem vhodné pro terapii nádorových onemocnění, protože mají silný vedlejší účinek.

Mechanismus účinku

Studie odhalily, že zavzetí [³H] - thymidinu do DNA je redukováno účinkem 1-propylfestuklavinu. Na druhé straně neovlivňuje zavzetí [³H] - uridinu do RNA a připojení [³H] - fenylalaninu do bílkoviny. Předpokládá se, že klaviny interferují s replikačními procesy DNA v L 5178y buňkách a nespecificky účinkují na růst buněk. Tento závěr byl založen na pozorováních, že všechna aktivita klavinů zapříčiňuje „nevyrovnaný růst“, vlastnost, která se podílí na cytostatických účincích zastoupených selektivní inhibicí DNA syntézy.

Experimenty s 1-propylelymoklavinem ukázaly, že opět nízké koncentrace redukovaly signifikantně pouze inkorporaci thymidinu. Při vysoké koncentraci cytostatické látky bylo pozorováno další snížení v inkorporaci uridinu a fenylalaninu.

Ve vychytávání a zabudovávání nukleosidů do DNA a RNA lidských lymfoidních leukemických Molt 4B buněk byla objevena inhibice závislá na dávce vyvolaná různými růst omezujícími deriváty festuklavinu. Tyto výsledky naznačují, že inhibiční účinky na nukleosidovou inkorporaci do DNA nebo RNA jsou zapříčiněny pouze inhibicí vychytávání nukleosidů.

Práce, které se zabývaly cytostatickým, bakteriotoxickým a mutagenním účinkem látek naznačují, že deriváty, které mají cytostatický účinek, nemají účinek mutagenní a antimikrobiální. (Eich, Pertz 1999)

3.4.3.5. Vliv námelových alkaloidů na imunitní systém

Účinek ergolinů na imunitní systém byl studován vzácně. Imunomodulační účinek ergolinů může být odvozen od vztahu mezi imunocyty a buňkami neuroendokrinního systému, které jsou primárním cílem ergolinových sloučenin. Současný výzkum se přednostně zaměřuje na imunosupresivní účinek dopaminergních a prolaktin inhibujících ergopeptidů.

Regulační role biogenních aminů v neuroendokrinně imunitní ose

Produkty imunitního systému (cytokiny, peptidy) sloužící ke koordinaci imunitní odpovědi, mohou sloužit jako důležité signály pro neuroendokrinní systém. Běžně známé a nejdůležitější pro neuroendokrinní systém jsou interleukiny (IL) IL-1, IL-2, IL-6, tumour necrosis faktor (TNF) a interferony, jejichž hlavní role se nachází ve fyziologii zánětu (infekce, nádorový růst). Lymfokiny zvyšují uvolňování dopaminu a norepinefrinu z dřeně nadledvin, dopaminový obrat v mozku a slouží jako endogenní neurokiny regulující striální dopaminergní funkce. Dopamin je zapojen do modulace TNF α a NO produkce peritoneálními makrofágy, uvolňování IL-6 a inhibice TNF α syntézy buňkami dřeně nadledvin. (Ritchie a kol. 1996)

Na druhé straně, mediátory neuroendokrinního systému ukazují facilitaci nebo inhibici funkcí imunitních buněk. Nedávno bylo zjištěno, že rovnováha mezi hypofysárním prolaktinem a nadledvinovými glukokortikoidy reguluje imunitní odpověď. Růstově stimulační prolaktin je kontraregulačním hormonem k protizánětlivým glukokortikoidům, které brání přehnaným účinkům imunitního systému. Jejich sekrece je kontrolována pomocí hypotalamických releasing nebo inhibičních hormonů podpořených centrální dopaminergní kontrolou. Nervový, endokrinní a imunitní systém se tedy podílí na udržování homeostázy. Katecholaminová syntéza non-neuronálními buňkami podporuje hypotézu autokrinních a parakrinních klíčků v regulaci lymfocytární aktivity. Narušení hormonálních a neurotransmiterních funkcí evokuje mnoho imunopatologických situací (imunodeficiencie, autoimunita, maligní buněčná transformace). (Sinha 1995)

Námelové alkaloidy v experimentálních imunologických studiích

V popředí zájmu se nachází proliferace, buněčně zprostředkovaná cytotoxicita a produkce lymfokinů s ohledem na antitumorózní imunitní účinek. Bylo pozorováno 30 přírodních nebo semisyntetických námelových alkaloidů a 30 glykosylových

derivátů alkaloidů. Pro přípravu glykosylových derivátů byly vybrány dihydrolysergol a elymoclavin. Zde uvádíme strukturálně nejjednodušší representanty 9,10-dihydroergolinů a Δ -9,10-ergolinů užívané v humánní terapii (např. nicergolin, pergolid, tergurid, dihydroergotamin, dihydroergotoxin).

Účinek ergolinů na buněčnou proliferaci je závislý na aktivačním (diferenciačním) stavu individuální buněčné subpopulace. Ve velmi nízké koncentraci (10^{-7} M- 10^{-10} M) námelové alkaloidy zvyšují ztracenou buněčnou mitotickou frekvenci.

• Účinek námelových alkaloidů na nespecifickou imunitu

NK buňky jako citlivé cíle účinku námelových alkaloidů

Cytotoxicita zprostředkovaná NK buňkami hraje důležitou roli v imunologickém dohledu proti vniklým patogenům, v kontrole nádorového růstu a v regulaci krvetvorby *in vivo*. Vysoká vnímavost NK buněk k pituitárním hormonům a neurotransmiterům, je činí vhodnými cíly pro imunomodulační činnost ergolinů. Interference námelových alkaloidů s adrenergními, dopaminergními a serotoninovými receptory může mít vliv také na imunitní citlivost. Jeden z hlavních mechanismů, kterým je regulována NK aktivita *in vivo*, zahrnuje uvolnění katecholaminů sympatickým nervovým systémem, následkem vystavení D_1 a D_2 dopaminových receptorů na lymfocytech. Dopaminergní oblasti v mozku jsou efektivním místem zapříchující modulaci imunitních parametrů, částečně NK buněčných funkcí. Proto tedy léze ve striatu nebo komprese basálních ganglií mozkovým tumorem působí proliferaci splenocytů a snížení aktivity NK buněk.

Aktivita přirozených zabíječských buněk je potlačena silnými dopaminovými smíšenými D_1/D_2 nebo D_2 antagonisty. Na druhé straně aktivace dopaminové (D_1R) neurotransmise mělo zesilující účinek na imunitu. Detekce D_1R specifity agroklovinu k lymfoidním buňkám byla v experimentech neúspěšná, i když byla nalezena specifická vazba [3H]-agroklovinu k lymfocytům.

Byla popsána podstatná role PRL v proliferaci NK buněk, v lymfoidní aktivaci dozrávání zabíječských (LAK) buněk, v IL-2R expresi, v indukci genů pro růstové faktory, v asociaci membránových rozpoznávacích molekul. Redukce cytotoxicity zprostředkované NK-buňkami během patologické hyperprolaktinémie byla obnovena bromokriptinovou terapií.

Znalostí, že receptory NK buněk mají afinitu k sacharidům, bylo využito při hledání ligandů, za pomoci glykosylovaných námelových alkaloidů, obsahujících cytotoxickou funkci. Cukerná část ergolinových glykosidů odpovídá mnoha společným

ligandům NK₂-PI receptoru vyjadřující u potkanů cytotoxické účinky zprostředkované NK buňkami. Tyto cukerné části jsou reprezentovány N-acetyl-galaktosaminem a N-acetyl-glukosaminem nebo přirozeně se vyskytujícími oligosacharidy obsaženými jako konečné části sloučenin.

Při zkoušení cytotoxicity lidských NK buněk za použití rozdílných koncentrací přirozených a semisyntetických ergolinů byl nalezen významný, na dávce závislý účinek. Když byly aplikovány vysoké dávky (10^{-6} M), byla pozorována inhibice účinku NK buněk proti senzitivním cílovým buňkám, kdežto nízké dávky měly účinek stimulační.

Elymoklavin a dihydrolysergol ukázaly hluboké změny aktivity NK buněk *in vitro*. Cytotoxicita lidských PBMC buněk proti NK-rezistentním cílovým buňkám byla stimulována převážně při podání glykokonjugátů elymoklavinu, kdežto cytotoxicita proti NK-senzitivním buňkám byla stimulována při podání dihydrolysergolových glykokonjugátů. Ovšem u myši byl nalezen opačný účinek elymoklavinu.

Účinek ergolinů na makrofágy

Dopaminové receptory prezentované na peritoneálních makrofágách hrají důležitou roli v lipopolysacharidy (LPS) indukované produkci TNF- α a oxidu dusného (NO). Předléčení D₂R agonistou bromokriptinem nebo quinpirolem zapříčinilo, po jejich intraperitoneálním podání, otupení TNF- α a NO odezvy. D₂R antagonistu sulpirid vykázal inhibiční účinek na produkci TNF- α a NO peritoneálními makrofágy. Nicméně antagonisté D₁R inhibují pouze LPS-indukované uvolňování NO a nemění hladiny TNF- α . Tyto nálezy mohou být klinicky závažné, neboť doposud nejvíce terapeuticky užívané ergolinové sloučeniny účinkují na D₂R. Oxidativní změny makrofágů byly významně stimulovány také agroklaivinem, elymoklaivinem a nicergolinem. (Fišerová, Pospíšil 1999)

•Modulace specifické imunity pomocí námelových alkaloidů

Účinek ergolinů na funkce T lymfocytů

Neuroendokrinní kontrola thymu (jako zdroje T lymfocytů) jeví výrazně komplexní existenci intrathymického biologického okruhu zahrnující *in situ* produkci hormonů glandula pituitaria a neuropeptidů a vyjádření jejich příslušných receptorů na buňkách thymu. Ke klasické endokrinní cestě jsou v repertoáru generace T buněk

zahrnuty cesty parakrinní a autokrinní mechanismy. Uspořádání zárodečných linií TCR (receptor T buněk) nejsou kompletně randomizovány a mohou být modulovány některými hormony (prolaktin, estradiol), cytokiny (IL-4) a také léky odvozenými od cyclosporinu A nebo bromokriptinu. Bromokriptin mění vývojový model thymocytů pomocí vystupňování diferenciaci a inhibice proliferativního podílu.

Potlačení uvolňování pituitárního PRL zmenšuje šíři imunitní odpovědi, včetně aktivace restriktivních T buněk mitogeny, IL-2 nebo alloantigeny; primární IgM odpovědi závislé na T buňkách a makrofágové aktivace závislé na T buňkách. Bromokriptin potlačuje všechny zmíněné funkce T lymfocytů díky inhibici prolaktinové sekrece, následně blokádu IL-2, produkcí IFN- γ a expresí IL-2 receptoru (CD25). Mimoto bromokriptin posiluje imunosupresivní účinek cyklosporinu A (CsA) na proliferaci T buněk a expresi CD25 antigenu. Účinek je dán dvěma faktory: 1) CsA kompetuje s PRL na společném vazebném místě na buněčném povrchu a 2) bromokriptin snižuje množství cirkulujících molekul PRL. Na druhé straně celkové množství PRL-R⁺ lymfocytů není ovlivněno bromokriptinem, neboť PRL-R exprese je regulována jinými faktory než hladinou pituitárního PRL. Imunosupresivní účinek bromokriptinu může být odvozen od indukce nespecifického supresorického faktoru produkovaného CD8⁺T lymfocyty.

Ergoliny s různými sacharidovými zbytky silně inhibují (10^{-11} M) mitotickou aktivitu restriktivních a PHA-aktivovaných lymfocytů. Tyto nálezy korelují s glycidovou vazebnou specifitou lektinů, které jsou důležité v regulaci buněčného růstu a diferenciaci.

Byl testován vliv 30 přírodních a semisyntetických námelových alkaloidů na imunitní odpověď závislou na T_H buňkách *in vitro* (MLC, specifická cytotoxická aktivita T buněk-CTL) nebo *in vivo* (graft versus host reaction – GrHR). Odpověď T lymfocytů k alloantigenům v MLC byla inhibována pouze při podání ergopeptinových alkaloidů, α - a β -ergokryptinu, nicergolinu a lisuridu (10^{-6} M). Přírodní ergopeptinové alkaloidy, nebo ergopeptidy typu ergometrinu, ergotaminu a terguridu neměly vliv na MLC reaktivitu. GvHR neukázala signifikantní změny ani při vysokých dávkách (5-20 mg/kg) ergolinů, ergopeptinových alkaloidů – ergometrinu, terguridu, lisuridu. Nicergolin a některé přírodní a semisyntetické ergoliny (lysergol, chanoklavin, 10 α -methoxy-dihydrolysergol) ukázaly signifikantně imunosupresivní účinek. Tergurid je indikátorem DTH reakce (hypersenzitivita) u stresovaných telat, kde zapříčiňuje

změny v expresi katecholaminového receptoru a uvolňování neuroendokrinních mediátorů stresu.

Účinky ergolinů na B lymfocyty

Přítomnost D₂-podobných dopaminových receptorů na B lymfocytech naznačuje, že dopamin má induktivní funkční roli v aktivaci B buněk a v syntéze imunoglobulinů. Experimenty ukázaly, že polyklonální aktivace splenocytů za přítomnosti námelových alkaloidů (dihydroergokorninu, dihydroergokristinu, dihydro- α a β -ergokryptinu) snížilo množství protilátek produkovaných buňkami.

Různé neurotransmitery a příbuzné sloučeniny (např. námelové alkaloidy) působící v CNS mohou ovlivňovat citlivost B lymfocytů a měnit protilátkovou produkci proti antigenům závislých na T buňkách (SRBC-sheep red blood cells and other alloantigens). Tento účinek je způsoben expresí adrenergních (především β typ), dopaminergních (D₂R) a serotoninových receptorů B buňkami. Konverze L-DOPA na dopamin v organismu může selektivně ovlivňovat B lymfocytovou funkční odpověď na antigeny závislé na T buňkách, kdežto protilátková produkce indukovaná bakteriálními antigeny zůstává nezměněna. Podobně tak bromokriptin potlačuje skrze dopaminově agonistické a dihydroergosin prostřednictvím serotoninově antagonistické vlastnosti tvorbu imunoglobulinů aktivací B buněk na SRBC.

Pokusy s přírodními a semisyntetickými námelovými alkaloidy ukazují, že ergopeptiny a alkaloidy reagující s α -adrenoreceptory na lymfocytech negativně ovlivňují množství protilátkové produkci buněk. Významná inhibice se objevila pouze v IgG produkci působením derivátů kyseliny lysergové: dihydrolysergolu, 10- α -methoxy-dihydrolysergolu a lisuridu. Tyto nálezy demonstrují, že ergoliny mohou ovlivňovat B lymfocyty přímo (*in vitro*) nebo prostřednictvím neuroendokrinního systému (*in vivo*) a obě tyto aktivity jsou inhibiční. (Fišerová, Pospíšil 1999)

Nedávné výzkumy prokázaly hlavní regulační roli PRL také u autoimunních chorob. PRL působí v patogenezi některých revmatoidních onemocnění jako např.: systémový lupus erythematosus, revmatoidní artritida (kolagenového typu II), Sjögrenův syndrom, Reiterův syndrom, psoriatická artritida. U těchto pacientů jsou vysoké hladiny PRL účinně léčeny bromokriptinem, což je doprovázeno také úpravou imunitních poruch. (Gutierrez a kol. 1999)

T a NK buňky a jejich lymfokinová produkce

Významný účinek ergolinů na humorální imunitní mechanismy je zprostředkován indukcí produkce lymfokinu T a NK buňkami. Změny uvolňování IFN- γ jsou signifikantně ovlivněny během léčby pacientů lisuridem.

Ergolinové sloučeniny regulují ve spolupráci s dalšími stimulatory jako jsou druzí poslové (IL-2, lektiny, alloantigeny) lymfokinovou produkci (IFN- γ , TNF- β , IL-2) lidských PBMC, jako jsou NK buňky. Významné zvýšení uvolňování IFN- γ bylo indukováno především agroklavinem a TNF- β pak chanoklavinem a ergometrinem. Agroklavin, elymoklavin a ergometrin významně zvyšovaly produkci IL-2 v alloantigenně (MLC) stimulovaných kulturách. (Fišerová 1995)

3.5.3.6. Cílové orgány při použití námelových alkaloidů

Centrální nervový systém.

Dopaminové receptory v CNS pravděpodobně hrají důležitou úlohu v extrapyramidové kontrole motoriky a v regulaci vyplavování prolaktinu. Největší selektivitu k těmto receptorům jeví tyto námelové alkaloidy: bromokriptin, tergurid a lisurid. Aktivují regulační dopaminové receptory a tím přímo potlačují sekreci prolaktinu v hypofyzárních buňkách (hyperprolaktinémie). (Katzung a kol. 1994) Rovněž, jak uvádí Lüllmann (2002), je možné v této indikaci uplatnit polosyntetický derivát kabergolin, který stimuluje dopaminergní D₂-receptory a inhibuje sekreci prolaktinu. Lze ho také použít k ukončení laktace a při stavech se zvýšenými koncentracemi prolaktinu v krvi.

Námelové alkaloidy také snižují sekreci somatotropinu (akromegalie). Jako parciální agonisté působí na presynaptických D₂ receptorech, kdy snižují následky snížené koncentrace dopaminu (bromokriptin, lisurid, pergolid – Lincová a kol. 2002) v basálních gangliích mozku, jako je např. rigidita, bradykineze, klidový třes, posturální nestabilita (Parkinsonova nemoc).

Cévní hladká svalovina.

Účinky námelových alkaloidů na cévní hladkou svalovinu jsou závislé na konkrétní použité látce, živočišném druhu a typu cévy. U lidí ergotamin spolehlivě kontrahuje většinu cév. Vasokonstrikce je dlouhodobá, intenzivní a lze ji částečně blokovat běžnými alfa-lytiky. Při předávkování ergotaminem a jemu podobnými léčivy se dostavuje výrazný a dlouhodobý vasospasmus, který lze odstranit pouze silnými vasodilátory jako je třeba nitroprusid. Přestože u některých (dihydrovaných) námelových alkaloidů jsou přítomné alfa-lytické vlastnosti, dominujícím projevem v cévním řečišti je vasokonstrikce. Větší část vasokonstrikce lze vysvětlit parciálně agonistickým účinkem na alfa-adrenergní receptory, určitý podíl však může být výsledkem aktivace 5-HT receptorů. Ergotamin, ergonovin a methysergid jsou nejčastěji používanými námelovými léčivy při léčbě migrény. Jako součást kombinovaných antihypertenzních přípravků se využívá dihydroergokristin. Vzhledem k tomu, že vlivem na hladkou svalovinu tonizuje žilní stěnu, používají se i jako součást některých venofarmak.

Hladká svalovina dělohy.

Stejně jako v případě cévní svaloviny jsou stimulační účinky námelových alkaloidů v děloze kombinací alfa-adrenergního, serotoninového a ještě dalších mechanismů působení. Pravděpodobně proto, že v průběhu těhotenství dochází v děloze k převaze vlivu alfa₁-adrenergních receptorů, zvyšuje se během gravidity dramaticky citlivost dělohy na stimulační účinky námelových alkaloidů. Nejvyšší citlivosti je dosaženo v období před porodem. V porodnických indikacích se uplatňují ergometrin a metylergometrin.

Hladká svalovina jiných orgánů.

U většiny pacientů nemají námelové alkaloidy významný vliv na hladké svaly bronchiolů. U některých pacientů se objevují značné odchylky v citlivosti svaloviny gastrointestinálního traktu. Již nízké dávky mohou vyvolat nevolnost, zvracení a průjemy, u některých pacientů se tyto příznaky objevují až po vysokých dávkách. Příčinou těchto účinků je ovlivnění CNS (konkrétně centra pro zvracení) a aktivací serotoninových receptorů trávicího traktu. (Katzung a kol. 1994, Hardmann a kol. 2001)

3.5.3.7. Klinická farmakologie námelových alkaloidů

Migréna.

Ačkoli symptomy migrény jsou u jednotlivých pacientů různé, intenzita bolesti hlavy vyžaduje u většiny případů radikální terapii. Patofyziologie migrény zcela zřejmě spočívá ve změně vasomotorické reaktivity, protože začátek bolesti hlavy bývá spojen se značným vzestupem pulsací temporální artérie a ústup bolesti po ergotaminu je provázen oslabením arteriálních pulsací. Zdá se, že na počátku migrenózní aury dochází k vyplavování serotoninu z trombocytů a že fáze arteriálních pulsací je svázána s poklesem koncentrací sérového a destičkového serotoninu pod normální hladiny. Jiný důkaz hovořící pro úlohu serotoninu u migrény spočívá v tom, že ve stěně meningeálních cév i v perivaskulární tkáni jsou přítomna mnohočetná zakončení serotonergních nervů a že mnoho léčiv potlačujících migrénu přímo nebo nepřímo ovlivňuje serotonergní nervový přenos. Také zvýšené hladiny prostaglandinu nebo pokles hladin estrogenů může vést ke vzniku migrény u žen ve spojitosti s menstruačním cyklem. Tradiční terapie ergotaminem má nejvyšší efekt, když je zahájena během prodromů záchvatu. Čím později je ergotamin podán, tím slabší je jeho účinek. Ergotamin tartrát je možné podávat perorálně, sublingválně, inhalačně

a rektálně v čípcích. Ergotamin se často kombinuje s kofeinem, aby se usnadnila jeho absorpce. Vasokonstrikce vyvolaná ergotaminem je dlouhodobá, jestliže se látka podává v průběhu těžkého záchvatu opakovaně (látka má kumulativní účinky). Protože ergotamin má kumulativní toxicitu, pátralo se po bezpečnějších alternativách. Zkoušel se ergonovin a methysergid. Methysergid je u migrenózních pacientů účinný asi u 60% a je poměrně neúčinný v léčbě nastupujících nebo aktivních period migrény. (Katzung a kol. 1994) Tento parciální agonista má oproti ergotaminu vyšší afinitu k 5-HT₂ receptorům a zároveň nižší vlastní vasokonstrikční aktivitu. Tím se dá vysvětlit proč je tak účinný v prevenci, nikoliv v léčbě atak migrény. (Hrdina a kol. 1997) V prevenci migrény je také využíván dihydroergocryptin a to v dávce 10 mg dvakrát denně. Rovněž velmi důležitý v prevenci migrény je dihydroergotamin, který se podává v dávce 5 mg dvakrát denně po dobu dva až 3 měsíce. Po uplynutí této doby je nezbytné léčbu přerušit. (Massimo, Gennaro 1995) Upřednostnění použití dihydroergotaminu oproti ergotaminu uvádí rovněž i Lincová a kol. 2002, kdy u dihydroergotaminu jsou uváděny menší nežádoucí účinky.

Zatímco v případě mírné nebo středně těžké migrény se využívají látky jiného typu než námelové alkaloidy, pak v období mírné nebo těžké migrény se jednoznačně objevují deriváty námelových alkaloidů. (Hardman a kol. 2001)

Hyperprolaktinémie.

Prolaktin je hormonem předního laloku hypofýzy. Zvýšení jeho sérových hladin provází některé hormonálně aktivní nádory hypofýzy, a také bývá spojeno s podáváním centrálně působících dopaminových antagonistů, neuroleptik. Vzhledem k přítomnosti negativní zpětné vazby je hyperprolaktinémie u žen provázena amenorheou a neplodností, může se objevit galaktorea. (Craig a kol. 2004, Katzung a kol. 1994) U mužů se v důsledku hyperprolaktinémie objevují tyto symptomy: infertilita, impotence a galaktorea. (Hardman a kol. 2001) Bromokriptin mesylát dokáže mimořádně účinně snížit vysoké hladiny prolaktinu vyvolané hypofyzárními tumory. (Katzung a kol. 1994) Tento semisyntetický námelový alkaloid přímo specificky stimuluje D₂ receptory buněčné membrány buněk glandula pituitaria a tím inhibuje syntézu prolaktinu a jeho sekreci řízenou TRH. (Lincová a kol. 2002) Mechanismus, kterým intracelulární poslove zprostředkovávají inhibiční účinek, zůstává sporný. D₂ receptory (v laktoforese) mohou být negativně spojovány s adenylátcyklasou, s redukcí intracelulárních hladin cAMP. Ostatní regulace se rovněž uplatňují, je to například: regulace prostřednictvím vápníku, fosfatidylinositolu a proteinkinasy C. Během dlouhodobé léčby

bromokriptinem se také pravděpodobně uplatňuje možný antimitotický účinek tohoto léku. (Ciccarelli, Camanni 1996) Obvyklá dávka bromokriptinu je 2,5 mg dvakrát až třikrát denně. Ve stejné dávce je také možné využít bromokriptin pro zástavu fyziologické laktace. V ČR se v této indikaci dává přednost domácímu terguridu nebo lisuridu. (Katzung a kol. 1994) V této indikaci je rovněž využíván i kabergolin, agonista dopaminových D₂-receptorů, který má proti předchozím látkám výrazně prodloužený účinek. Jeho eliminační poločas 62-115 h umožňuje podávání 1-2krát týdně. Má velmi málo nežádoucích účinků. (Craig a kol. 2004, Lincová a kol. 2002)

Parkinsonova nemoc

Parkinsonova nemoc je neurologická extrapyramidová porucha způsobená neurodegenerací zejména dopaminergních neuronů bazálních ganglií (nucleus caudatus, putamen, pallidum), často idiopatická. Symptomaticky obdobný parkinsonský syndrom může vzniknout jako následek virové encefalitidy, cerebrovaskulárních poruch, anoxie při úrazech hlavy nebo otravách. Ztráta dopaminergních neuronů je největší v substantia nigra a degenerace postihuje též dopaminergní zakončení v corpus striatum, kde jsou přítomny ve velké koncentraci dopaminové receptory D₁ (excitační) a D₂ (inhibiční). Hlavním příznakem je hypokineze, k dalším patří svalová rigidita a tremor (mizející jen ve spánku). Příznaky jsou způsobeny komplexními změnami v aktivitě i dalších neurotransmiterů (acetylcholin, noradrenalin, 5-HT, GABA), podobně jako doprovodné mentální příznaky. Léky používané při Parkinsonově nemoci mají za úkol působit proti nerovnováze dopaminergních a acetylcholinergních funkcí ve striatu. Jednou ze skupin využívaných v této indikaci jsou agonisté dopaminových receptorů. Kromě ropinirolu a apomorfínu jsou to námelové alkaloidy (bromokriptin, lisurid, pergolid) (Lincová a kol. 2002). Bromokriptin působí na D₂-receptorech jako agonista a na D₁-receptorech jako částečný antagonist. Pergolid působí na obou receptorových subtypech jako agonista. (Craig a kol. 2004)

Veškerá dostupná farmakoterapie Parkinsonovy choroby je vlastně symptomatická – nepostihuje příčinu, a tedy neovlivní progresi choroby. Nové snahy o nalezení způsobu, jak nahradit ztrátu dopaminergních neuronů, spočívají v transplantaci. Peklinický výzkum se zabývá studii buněčných kultur, ve kterých jsou buňky jiných než než nervových typů (např. fibroblasty) geneticky manipulovány tak, aby syntetizovaly a uvolňovaly dopamin nebo růstové faktory, a mohly tak v budoucnu úspěšně sloužit neurotransplantaci. (Lincová a kol. 2002)

Poporodní krvácení.

Děloha je v období porodu mimořádně citlivá na stimulační účinky námelových alkaloidů a dokonce i nízké dávky mohou vyvolat dlouhodobý mohutný stah dělohy, který je zcela odlišný od fyziologicky probíhajících porodních stahů. Když se námelové alkaloidy začínaly v 18.století v porodnictví používat, nebyla tato skutečnost známá, a podávání námelových alkaloidů ve snaze urychlit porod tehdy vedlo k dramatickému vzestupu fetální i mateřské mortality. Námelové alkaloidy jsou vhodné pouze pro ovlivnění poporodního krvácení a v průběhu porodu by neměly být nikdy podávány. Ergometrin případně metylergometrin se obvykle aplikují nitrosvalově v dávce 0,2 mg a v této indikaci jsou méně toxické než jiné deriváty námele. Jejich účinky se dostavují do 1-5 minut. (Katzung a kol. 1994) Intravenózní podání může způsobit přechodnou, ale těžkou hypertenzi. Třebaže většina přírodních námelových alkaloidů má kvalitativně stejný účinek na dělohu, ergonovin je více účinný a také méně toxický než ergotamin. Pro tyto důvody ergonovin a jeho semisyntetický derivát methylergonovin nahrazují ostatní námelové preparáty jako uterostimulancia v porodnictví. Oba dva alkaloidy se užívají rutinně pro vypuzování placenty po porodu, dále při poporodní a postabortální atonii a krvácení. (Craig a kol. 2004)

Methylergonovin se trochu liší od ergonovinu v jeho účinku na dělohu. Dihydrogenované alkaloidy nemají stimulační vlastnosti na dělohu jako jejich rodičovské alkaloidy jsou-li testovány na experimentálních zvířatech, nicméně jsou schopni projevit zjevný stimulační účinek na těhotnou lidskou dělohu. Ergonovin a methylergonovin jsou rychle a potencionálně kompletně absorbovány po orálním podání a dosahují vrcholu plazmatické koncentrace mezi 60.-90. minutou, což je 10x více než s ekvivalentní dávkou ergotaminu. Uterotonický účinek je pozorován za 10 minut po orálním podání dávky 0,2 mg ergonovinu u žen po porodu. Ergonovin je metabolizován i eliminován rychleji než ergotamin. (Hardman a kol. 2001)

Diagnostika variantní angíny.

V koronárním řečišti pacientů s koronárními spazmy (Prinzmetalova, variantní či spastická angina pectoris) ergonovin vyvolává bezprostřední vasokonstrikci. Tento alkaloid se v průběhu koronarografie aplikuje nitrožilní infúzí pacientům s podezřením na variantní formu angíny. (Katzung a kol. 1994) K diagnostice Prinzmetalovy angíny se také využívá námelový alkaloid ergometrin. Ačkoliv ukazuje pouze malou aktivitu na alfa-adrenoreceptorech, provokuje spazmy koronárních artérií u těchto pacientů. (Eich, Pertz 1994)

Senilní mozková nedostatečnost.

Mnoho let se používal jako lék při léčbě senility dihydroergotoxin a nyní ho podává řada klinických pracovníků při léčbě Alzheimerovy demence. V indikaci nootropika se používá také nicergolin, který má alfa-adrenolytické, přímé vasodilatační a antiagregační účinky. Bylo prokázáno zlepšení metabolické aktivity mozku, avšak tato léčba se jednoznačně neprosadila. (Lincová a kol. 2002)

Nejobvyklejším nežádoucím účinkem námelových alkaloidů je gastrointestinální nesnášenlivost, která se projevuje průjmami, nauzeou a zvracením. Na indukci zvracení se podílí podráždění serotoninových receptorů v centru pro zvracení v prodloužené míše a v gastrointestinálním traktu. Podstatně závažnějším nežádoucím účinkem je protrahovaný vasospasmus, který se rozvíjí po předávkování látkami typu ergotaminu a ergonovinu. Vasokonstrikce může vyústit až do gangrény a následné amputace. Ve většině případů je postižena cirkulace končetin, ale byl popsán i infarkt střev způsobený spasmem mesenterální arterie.

Chronická terapie methysergidem je provázena vývojem fibroplastických změn v retroperitoneálním prostoru, pleurální dutině a perikardu. Větší část toxicity naštěstí odezní po vysazení léčiva.

Mezi další nežádoucí účinky námelových alkaloidů patří ospalost, a v případě methysergidu i příležitostné stavy halucinací a centrální stimulace.

Kontraindikací užívání námelových alkaloidů jsou obstruktivní cévní choroby (angina pectoris, infarkt myokardu, cerebrovaskulární příhoda v anamnéze, přechodná ischemická ataka nebo hypertenze) a kolagenozy. (Craig a kol. 2004, Katzung a kol. 1994)

3.5.7. Tergurid

Jiný název: transdihydrolisurid

Chemický název: 3-(6-Methylergolin-8 α -yl)-1,1 diethylurea;

N-(6-Methyl-8-isoergolinyl)-*N,N'*-diethylurea

Empirický vzorec: base-C₂₀H₂₈N₄O, maleát-C₂₀H₂₈N₄O.C₄H₄O₄

Československý patent z roku 1986

Tovární výroba substance: Galena ČR (Křen 1999)

Fyzikální vlastnosti: bezbarvá krystalická látka citlivá na světlo (jinak dobré stability), rozpustná při pokojové teplotě v metanolu: 22 mg/ml, v etanolu: 10 mg/ml, H₂O: < 2 mg/ml a v tetrahydrofuranu: 35 mg/ml

Charakteristika a indikace

Tergurid je smíšený agonista/antagonista dopaminergních receptorů. Vstřebává se ze zažívacího traktu, biologická dostupnost je přibližně 48%. Má výrazný first-pass effect. Maximální hladiny v plazmě (2,3 ng/ml po podání 1 mg látky) jsou dosaženy za 1 hodinu po per os podání. Střední čas pobytu látky v organismu je 4,3 hodiny. Biologický poločas je 2-2,5 hodiny. Je metabolizován v játrech. Vylučuje se stolicí a močí. (AISLP 2004)

Z historie vzniku terguridu můžeme uvést, že jeho vliv na postsynaptické receptory ve striatu byl objeven při výzkumu dopaminergních agonistů potencionálních léků parkinsonismu. Prvním lékem této skupiny byl bromokriptin. Byly však u něj pozorovány nežádoucí účinky jako jsou: psychiatrické symptomy, ortostatická hypotenze a dyskineze, což vede k omezení užití této látky. U pacientů s pokročilou Parkinsonovou chorobou, u kterých presynaptická neuronální atrofie vedla k nedostatečné tvorbě dopaminu, bylo nalezeno prospěšné působení lisuridu a pergolinu shodné s působením dopaminergního agonisty bromokriptinu. Toto přímé postsynaptické stimulační působení efektivně zlepšuje motorickou koordinaci. Nicméně tento vnitřní účinek těchto látek vede k dalšímu působení v oblasti neporušeného dopaminergního systému v chemoreceptorech medulla oblongata, v mesolimbickém systému, v hypotalamo-hypofyzárním systému a v periferních cévách s dopaminergní inervací. Zapřičiňuje tak vznik vedlejších účinků, který omezuje jejich klinické užití.

Výzkum dopaminergních agonistů postrádajících tyto nežádoucí účinky vedl k syntéze tzv. „smíšených dopaminergních agonistů“ nebo „částečných dopaminergních agonistů“. Farmakologický profil těchto látek se liší od klasických dopaminergních agonistů. Z těchto sloučenin farmakologický profil terguridu vykázal antidyskinetické a antipsychotické vlastnosti. (Riederer 1986)

Tergurid inhibuje sekreci prolaktinu a patologicky zvýšenou sekreci růstového hormonu. (Dallabonzana a kol. 1985, Martignoni a kol. 1996) Dále upravuje sekreci gonadotropinů sníženou následkem hyperprolaktinémie. V klinické praxi se tudíž užívá v indikovaných případech k zástavě nežádoucí laktace (0,5-1 mg denně, po dobu 14 dnů). Dále se užívá k léčbě patologické hyperprolaktinémie jako jsou poruchy menstruačního cyklu a infertilita způsobené hyperprolaktinemií (1-3 mg denně), galaktorea, syndrom galaktorea-amenorea, hypofyzární adenomy se sekrecí prolaktinu (3-6 mg denně, později 1-3 mg denně), poruchy libida, potence a fertility u mužů spojené s hyperprolaktinemií. (AISLP 2004) Účinek terguridu na snížení prolaktinu byl dlouhodobější a účinná dávka byla asi 30x nižší než u bromokriptinu. (Mizokawa a kol. 1993) K další indikaci patří akromegálie, léčená dávkami 2-4 mg po dobu 8 měsíců (Graf 1987, Dallabonzana a kol. 1986, AISLP 2004), kde se podává tergurid jako doplňková léčba po nedostatečné chirurgické léčbě nebo po aktinoterapii. Využívá se rovněž k léčbě benigní hyperplazie prostaty a to k odstranění symptomatologie močové obstrukce v iniciálním stadiu onemocnění, když ještě není indikovaná operace. Použití nachází v léčbě idiopatického a postencefalického parkinsonismu, parkinsonismu na základě arteriosklerotických změn, zvláště při poklesu účinku levodopy. Při léčbě neuroleptiky se používá k odstranění chronické dyskinezy. V léčbě schizofrenie se využívá tam, kde převažuje negativní symptomatologie (Olbrich, Schanz 1988, Olbrich, Schanz 1991), u postprocesuálních stavů se sníženou spontaneitou, s psychomotorickým útlumem a apaticko-abulickým syndromem.

Při léčbě Parkinsonovy choroby se jeví vhodné v terapii motorických dysfunkcí užít kombinovanou terapii terguridu (parciální D₂ agonista) v dávce 1-5mg denně (AISLP 2004) a plného D₁ agonisty (SKF82958) s tím, že tato léčba neindikuje vedlejší účinky dopaminové léčby. (Akai a kol. 1995) Kromě léčby motorických dysfunkcí, může být tergurid vhodným lékem při léčbě dopaminergních psychóz provázející pokročilá stadia Parkinsonovy choroby. (Akai a kol. 1993) Tergurid je také s to minimalizovat vedlejší účinky klasických neuroleptik. (Svensson 1993)

V novější literatuře se tergurid nachází pouze v indikaci léčby hyperprolaktinémie a parkinsonismu. (Martindale 1999, Lincová a kol. 2002)

Kontraindikace, nežádoucí účinky a interakce

Absolutní kontraindikace nejsou známy. Opatrnosti je zapotřebí při podávání nemocným se závažným kardiovaskulárním onemocněním, vředovou chorobou a anamnesticky zjištěnými psychotickými poruchami. Na počátku léčby se může objevit nauzea, nechutenství, bolesti hlavy, zácpa, únavnost, ospalost. V průběhu léčby byly dále popsány poruchy termoregulace (acrohypotermie, zimomření, pocení), psychické poruchy (deprese, anxiozita, poruchy koncentrace, nespavost), ojediněle zhoršení hypertenze, ptyalismus. Tergurid zvyšuje účinky L-dopy. Neuroleptika a antagonisté dopaminu (např. metoklopramid, sulpirid) mohou oslabit účinek terguridu.

Dávkování

Tergurid se podává vždy s jídlem, nikoliv na lačno. Počáteční dávka se postupně zvyšuje podle individuální tolerance až k dávce terapeutické. Denní dávka se obvykle rozděluje do 2-4 dávek dílčích. Vzhledem k tomu, že u terguridu není přítomen hypotenzivní účinek, častý u jiných dopaminergních agonistů, nevzniká riziko ortostatického kolapsu, takže je možné léčbu terguridem zahájit podáváním vyšších dávek a rychleji dospět k terapeutické dávce. (AISLP 2004)

4. Experimentální část

4.1. Materiál a metody

4.1.1. Experimentální kmeny zvířat

V experimentech jsme použili dva kmeny potkanů, první kmen byl reprezentován normálními jedinci kmene Wistar (NR; poskytnuty Imperial Industry, Ltd., Pharmacological Division, Macclesfield, U.K.), jejichž základní parametry uvádíme v následujícím přehledu:

Základní biologické a fyziologické hodnoty laboratorního potkana kmene Wistar

Parametr	Jednotka	Hodnota
Hmotnost samce	g	250-500
Hmotnost samice	g	220-320
Délka života samce	roky	2-3
Délka života samice	roky	2-3
Délka březosti	dny	21-23
Zubní vzorec dospělých	-	1003/1003
Pohlavní dospělost samce	týdny	6-8
Pohlavní dospělost samice	týdny	5-8
Typ pohlavního cyklu	-	polyestrický
Délka pohlavního cyklu	dny	4-5
Estrus	hodiny	7-20
Ovulace	-	spontánní
Počet mláďat ve vrhu	ks	6-12
Počet vrhů v roce	-	7-9
Hmotnost novorozence	g	5-7
Doba kojení	dny	21
Spotřeba krmiva na 100 g hmotnosti/den	g	5-10
Spotřeba tekutin na 100 g hmotnosti/den	ml	8-11

Tělesná teplota	°C	37,5-39,0
Dechová frekvence	f/min	70-110
Srdeční frekvence	f/min	250-500
Celkový objem krve	ml/kg	55-70
Tlak krve systolický	kPa	12-25
Tlak krve diastolický	kPa	7-19
Hematokrit	l/l	0,36-0,48
Hemoglobin	g/l	110-180
Srážlivost krve	minuty	2-4
Celková bílkovina	g/l	56-76
Albumin	g/l	38-48
Globuliny	g/l	18-30
Glukóza	mmol/l	2,8-7,5
Močovina	mmol/l	0,8-3,5
Kreatin	μmol/l	17,5-70,8

(Knotková 2000)

Druhý kmen byl zastoupen štíhlými potkany Koletského typu (SHR), kteří byli vypěstováni Koletským a Hansenem (National Institute of Health, Bethesda, USA) a Ústavu experimentální neurochirurgie poskytnuti Hansenem v roce 1975. Výchozí materiál je reprezentován samicí SHR Okamoto a Aoki a samcem Sprague-Dawley. Inbredním chovem potomků po 21 generací došlo k mutaci a objevují se tři podkmeny zvířat: dominantní monozygoti (FF), recesivní homozygoti (ff), a heterozygoti Ff). Heterozygoti představují základ pro získání geneticky hypertenzivních obézních jedinců Koletského typu. Heterozygoty lze poznat jen podle přítomnosti či nepřítomnosti obézních jedinců ve vrhu. Obézní (ff) vykazují infertilitu – jsou takto biologickou koncovkou.

U štíhlých jedinců SHR byly prokázány, mimo jiné, tyto vlastnosti: hypertenze, porucha tolerance glukózy a zvýšená koncentrace plazmatických lipidů. (Koletsky 1972, Koletsky 1975 - a, Koletsky 1975 - b, Golda a kol. 1981, Golda, Hilgertová 1997 d, Cerman, 1998). Štíhlé samice i štíhlí samci vykazují rovněž hyperprolaktinémii. (Golda 1998 a)

U sledovaného SHR kmenu byly prokázány i behaviorální odchylky. Významné snížení stresové odpovědi bylo zjištěno u geneticky hypertenzních obézních potkanů Koletského typu, stejně tak jako u jejich neobézních sourozenců. Tento výměr platí pro samce. Samice normotenzivních potkanů kmene Wistar, samice geneticky hypertenzivních obézních potkanů a samice geneticky hypertenzivních neobézních potkanů vykazují srovnatelnou úroveň rezistence vůči stresu.

Geneticky hypertenzivní obézní a neobézní samci mohou být uvažováni jako geneticky podmíněný zvířecí model anxiozity. (Golda, Petr 1988)

Permeabilita hematoencefalické bariéry u spontánně hypertenzních potkanů je za přechodné ischémie mozku signifikantně vyšší než u normotenzivních potkanů kmene Wistar. (Abraham a kol. 2002)

Zvířata obou kmenů byla po odstavení chována po čtyřech v chovných bedýnkách. Měla volný přístup k vodě a k peletové dietě ST 1 (kompletní krmná směs pro myši a krysy v SPF chovech, VELAS, a.s., Lysá nad Labem). Jedinci zařazení do pokusu byli značeni na ocase barevným fixem, dvakrát týdně bylo značení obnovováno. Přestýlání zvířat probíhalo rovněž dvakrát týdně.

Pokusné skupiny zvířat

Zvířata jsme rozčlenili do dvou základních skupin podle kmenů na zvířata „normotenzivní“ – NR, a „hypertenzivní“ – SHR. V obou skupinách jsme dále zvířata rozdělili na samce a samice. Každou pohlavní skupinu jsme rozdělili na kontrolní skupinu - **CoI** (u zvířat jsme vykonali pouze glukosový toleranční test), kontrolní skupinu - **CoII** (u zvířat jsme provedli chirurgický zákrok a poté glukosový toleranční test), skupinu s aplikovaným terguridem – **Te** (u jedinců této skupiny jsme provedli tentýž chirurgický zákrok a glukosový toleranční test). Všechna zvířata jsme rozvrstviili do jednotlivých věkových pásem: první – 4 – 4,5 měsíce, druhé – 5 – 6 měsíců, třetí – 7 – 8 měsíců, čtvrté – 9 – 10 měsíců, páté – nad 10 měsíců. Dílčí skupina vycházela z počtu osmi zvířat. Celkem jsme vytvořili 40 skupin zvířat. Do pokusu bylo zařazeno 178 zvířat kmene Wistar a 212 zvířat Koletského typu. Pro označení skupin jsme použili desetinné třídění. Názorný přehled přináší následující tabulky:

Tabulka č. 1: Rozčlenění zvířat do pokusných skupin – NR

věk (měsíce)	Samci NR – Skupina 1			Samice NR – Skupina 2		
	CoI	CoII	Tergurid	CoI	CoII	Tergurid
4					2.2.	2.3.
4,5				2.1.		
5	1.1.					
6		1.2.		2.4.	2.5.	2.6.
7	1.3.	1.4.				
8		1.5.	1.6.	2.7.	2.8.	2.9.
9	1.7.	1.8.				
10			1.9.			

Tabulka č. 2: Rozčlenění zvířat do pokusných skupin – SHR

věk (měsíce)	Samci SHR – Skupina 3			Samice SHR – Skupina 4		
	CoI	CoII	Tergurid	CoI	CoII	Tergurid
4		3.1.			4.1.	
4,5						
5	3.2.	3.3.	3.4.		4.2.	
6			3.5.	4.3.	4.4.	4.5.
6,5				4.6.	4.7.	
7	3.6.	3.7.	3.8.	4.8.	4.9.	4.10.
8			3.9.	4.11.	4.12.	4.13.
9						
10						
10,5				4.14.		
11					4.15.	

4.1.2. Pomůcky a přístroje

chirurgické nástroje - nůžky, chirurgická pinzeta, anatomická pinzeta, oční pinzeta zahnutá, oční anatomická pinzeta rovná, jehly, pean, chirurgické nitě, neurochirurgické mikrosvorky (Yarsagil standardní aneurysmatické svorky – Aesculap, Germany)

operační podložka

aplikační pomůcky - jehly, injekční stříkačky, žaludeční sonda

skleněné zkumavky a stojánek kovový, špičky plastové („ependorfky“),

heparinované skleněné kapiláry (75 mm/60mikrolitrů)

skleněný box s plechovým víčkem

automatická pipeta (50 µl)

centrifuga (T23, Janetzki)

horkovzdušný sterilizátor (HS 61 A, Chirana)

spektrofotometr (Carl Zeiss Jena 11)

počítač (PC KBLV)

4.1.3. Farmaka, roztoky a činidla

urasol – 20 tbl. (deproteinizační roztok, octan uranylu a chlorid sodný, Bio-Test Lachema Brno, PND 50-1414-85, ČR)

solunorm glukosa – 250 ml (40% glukosa, šarže 00810200, katalogové číslo 1207004, Bio-La-Test Lachema, Brno, ČR)

éter - 200 g (aether pro narcosi, PND 39 276 80, VCHZ Syntezia, Pardubice – Semtín, ČR)

injekční voda - 500 ml (AQ - aqua pro injectione, r.č. 87/466/95-C, sterilní a nepyrogenní, Infusia, a.s., Hořátek, ČR)

nembutal sodium solution - 20 ml (50 mg per ml), (NDC 0074-3778-04, Abbott Laboratories, North Chicago, IL 60064, U.S.A.)

tergurid hydrogenmaleát - 1,0 g (r.č. 201088, Galena, ČR)

4.1.4. Experimentální model

Model intolerance glycidů byl navozen oboustranným uzávěrem arteria carotis communis na dobu 4 hodiny s následnou 44 hodinovou reperfuzí.

4.1.5. Metody

Oboustranný uzávěr arteria carotis communis

(v tabulkách, kap. 9.1., uváděn ve zkratce jako „klip“)

Zvíře jsme uvedli do anestésie podáním nembutalu (intraperitoneálně, 50mg/kg hmotnosti). Poté jsme zvíře uložili v dorsální poloze na operační podložku a upevnili pomocí gázy horní i dolní končetiny. Nadzdvihli jsme pinzetou kůži v oblasti přední strany krku a provedli nastřížení kůže ve směru orálním. Pak jsme provedli tupou preparací roztažení kůže do stran tak, aby se nám dostatečně odkrylo operační pole. První operátor uchopil pinzetou svalovinu na své bližší straně a na druhé straně uchopil pinzetou svalovinu druhý operátor. Provedli jsme opatrné nastřížení svalové tkáně tak, abychom nepoškodili podčelistní žlázy a nezpůsobili krvácení. Tupou preparací jsme rozvolnili vazivo. Poté druhý operátor uchopil do pinzety svalovou tkáň nad hrtanem a první operátor uchopil pinzetou zdvihač hlavy a odsunul ho do boku. Tím jsme odkryli vstupní cestu, kterou jsme postupovali při preparaci společné krkavice. Pinzetou (oční zahnutou) uchopil první operátor společnou krkavici a podvléknul druhou pinzetu (oční zahnutou). Pomocí obou pinzet odstranil první operátor vazivovou tkáň ležící v blízkosti krkavice tak, aby céva byla zcela volná. Druhý operátor stále přidržoval pinzetou svalovinu nad hrtanem a druhou rukou připravil neurochirurgickou mikrosvorku. Po vypreparování krkavice uzavřel druhý operátor cévu svorkou a první ji uložil do původní polohy. Totéž totéž jsme opakovali na protilehlé straně. Zašili jsme kůži jedním stehem a zvíře uložili na bok do připraveného čistého boxu. Po 4 hodinách uzávěru jsme rozstříhli steh a vyjmuli svorky. Zašili jsme ránu dvěma stehy a zvíře ponechali 44 hodin v reperfuzi.

Glukosový toleranční test (GTT)

Po 14 hodinovém hladovění jsme uvedli zvíře do lehké éterové narkózy a provedli odběr kapky krve pro zjištění basální glykémie (krev jsme odebírali z retrobulbárního plexu pomocí heparinizovaných kapilár). Poté jsme podali zvířeti gastrickou sondou 3 g/kg hmotnosti 30% roztoku glukózy a stejnou technikou jsme odebrali vzorky krve ve 30., 60., 120., 180. minutě. Standardní množství krve jsme nabrali pomocí automatické pipety (50 μ l, tj. 0,05 ml) a přenesli do připravené zkumavky, která obsahovala 0,5 ml urasolu.

Vyloučení éteru jako stresoru vedoucího ke kontaminaci vzorků glykémie stresovou hyperglykemií bylo potvrzeno v samostatném šetření. Bylo zjištěno, že

v námi stanovených intervalech glukosového tolerančního testu ke kontaminaci nedochází. (Golda 1998 a, Golda 1998 c)

Stanovení glykémie

Glykémie byla stanovena enzymaticky v biochemické laboratoři neurochirurgické kliniky fakultní nemocnice v Hradci Králové.

Stanovení obsahu vody v mozku

Po skončení glukózového tolerančního testu jsme zvířata dekapitovali. Mozek jsme oddělili mezi míchou a prodlouženou míchou a vyjmuli z lebky. Ihned jsme mozek zvážili a uložili do horkovzdušného sušícího boxu. Po 48 hodinách sušení byl mozek opět zvážen.

Aplikace terguridu

Tergurid byl aplikován dvakrát denně (v 7.00 a ve 14.00 hodin), intraperitoneálně (0,1 mg/kg hmotnosti). Lék jsme podávali po dobu 8 dní, z toho 6 dní před chirurgickým zákrokem a dva dny po zákroku (celkem 15 dávek).

4.1.6. Zpracování a zaznamenávání dat a výsledků

Výsledky jsme zaznamenávali do pracovních sešitů a dále do evidenčních knih vedených na pracovišti výzkumného ústavu. Každé zvíře, zařazené do pokusu, bylo vedeno pod pořadovým číslem s označením letopočtu. U každého zvířete bylo přesně evidováno: kmen, pohlaví, datum narození, hmotnost, typ pokusu, datum konání pokusu, datum odběru vzorků, datum usmrcení, případně čas úhynu, v poznámce pak další informace.

Pro zpracování výsledků jsme sledované hodnoty zanesli do tabulek. Výsledky jsme vyjádřili pomocí grafů a tabulek. V hlavičce grafů pod symbolem „-d“, jsou zachycena doživší zvířata a pod symbolem „-n“ pak nedoživší zvířata. Pod symbolem $n=x/x$ jsou prezentovány počty zvířat v jednotlivých znázorněných skupinách.

4.2. Použité programy pro statistické zpracování výsledků

Výsledky byly zpracovány v počítačovém programu **excel**, hladiny významnosti byly stanoveny použitím nepárového **T testu**. Za statisticky významné považujeme ty nálezy, kde $P < 0,05$ (případně $P < 0,01$, či $P < 0,001$).

4.3. Výsledky

V této kapitole uvádíme výsledky našich experimentů. Data jsou rozčleněna do čtyř částí a za každou z nich následuje souborný přehled výsledků. Před přehledy výsledků uvádíme vždy legendu použitých symbolů. Ke každému z grafů jsou přiřazeny výchozí údaje. Za každým grafem následuje jeho komentář.

Protože symboly se v jednotlivých grafech opakují, uvádíme zde legendy s použitými symboly:

Legenda pro graf č. 1. až graf č. 57.:

* = $P < 0,05$

** = $P < 0,01$

*** = $P < 0,001$

Col = kontrolní skupina, u které jsme vykonali pouze glukosový toleranční test

Coll = kontrolní skupina, u které jsme provedli čtyř-hodinový oboustranný uzávěr a. carotis communis s následnou 44 hodinovou reperfusí, poté jsme vykonali glukosový toleranční test

Te = skupina, u které byl aplikován tergurid a proveden stejný postup experimentu jako u Coll skupiny

n = počet zvířat, jejichž výsledky jsou zobrazeny v grafu

čas = hodnoty v minutách znázorněné na ose x

mmol/l = koncentrace glukosy znázorněná na ose y

AUC = plocha pod křivkou (glukosové toleranční křivky) uvedená v mmol . min/l

Pozn.: vzhled výplně sloupců grafů odpovídá konkrétním pokusným skupinám, viz zalaminovaná záložka „ Vzhled výplně jednotlivých grafů“

Legenda pro graf č. 58. až graf č. 84.:

* = $P < 0,05$

** = $P < 0,01$

*** = $P < 0,001$

Col = kontrolní skupina, u které jsme vykonali pouze glukosový toleranční test

Coll = kontrolní skupina, u které jsme provedli čtyř-hodinový oboustranný uzávěr a. carotis communis s následnou 44 hodinovou reperfusí, poté jsme vykonali glukosový toleranční test

Te = skupina, u které byl aplikován tergurid a proveden stejný postup experimentu jako u Coll skupiny

n = počet zvířat, jejichž výsledky jsou zobrazeny v grafu

PVM = podíl vody v mozku

-d - znázorňuje zvířata, která přežila reperfusní období

-n - znázorňuje zvířata, která nepřežila reperfusní období

Pozn.: vzhled výplně sloupců grafů odpovídá konkrétním pokusným skupinám, viz zalaminovaná záložka „ Vzhled výplně jednotlivých grafů“

4.3.1. Grafické znázornění výsledků a jejich komentář

4.3.1.1. Vliv oligemické hypoxie mozku na hladinu krevní glukosy

Zde jsme sledovali, zda oligemická hypoxie mozku navodí intoleranci glycidů ve všech sledovaných skupinách a ve všech sledovaných pásmech. Porovnávali jsme vždy kontrolní skupinu Col, u které byl proveden pouze glukózový toleranční test, s kontrolní skupinou Coli, u které byl proveden chirurgický zákrok navozující oligemickou hypoxii mozku a poté glukózový toleranční test.

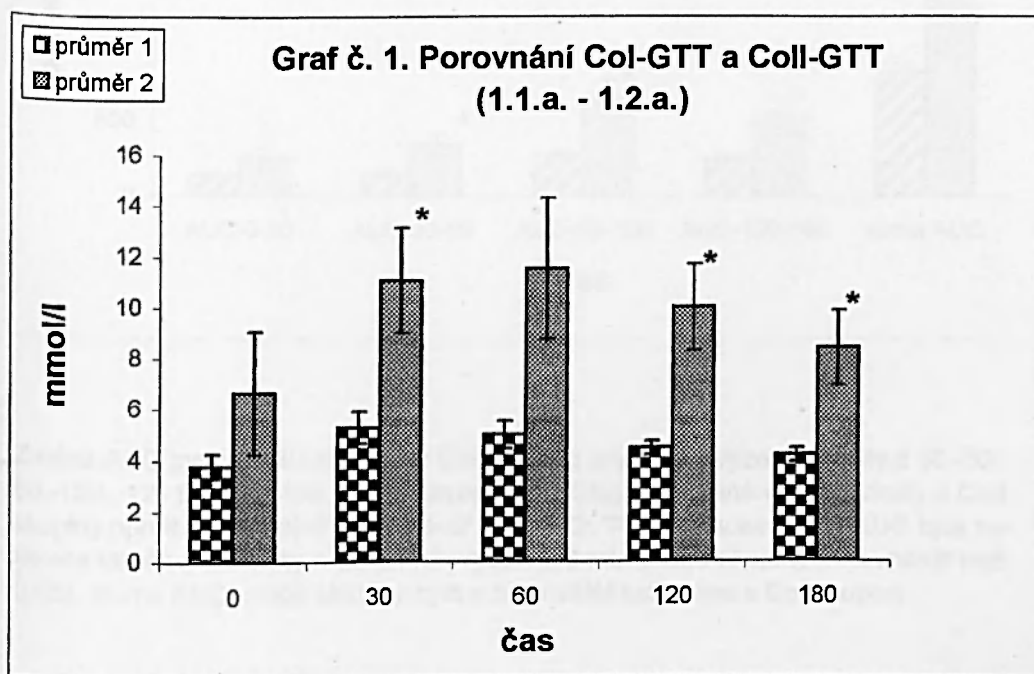
SKUPINA 1 - samci NR

Druhé pásmo:

Porovnání Col-GTT a Coll-GTT (1.1.a. - 1.2.a.), (n= 7/3)

	0	30	60	120	180
průměr 1	3,77	5,26	5,00	4,46	4,16
průdch	0,38	0,45	0,43	0,21	0,22
smodch	0,46	0,64	0,56	0,26	0,26

	0	30	60	120	180
průměr 2	6,63	11,10	11,57	10,03	8,40
průdch	1,71	1,53	1,96	1,16	1,13
smodch	2,42	2,07	2,77	1,70	1,47

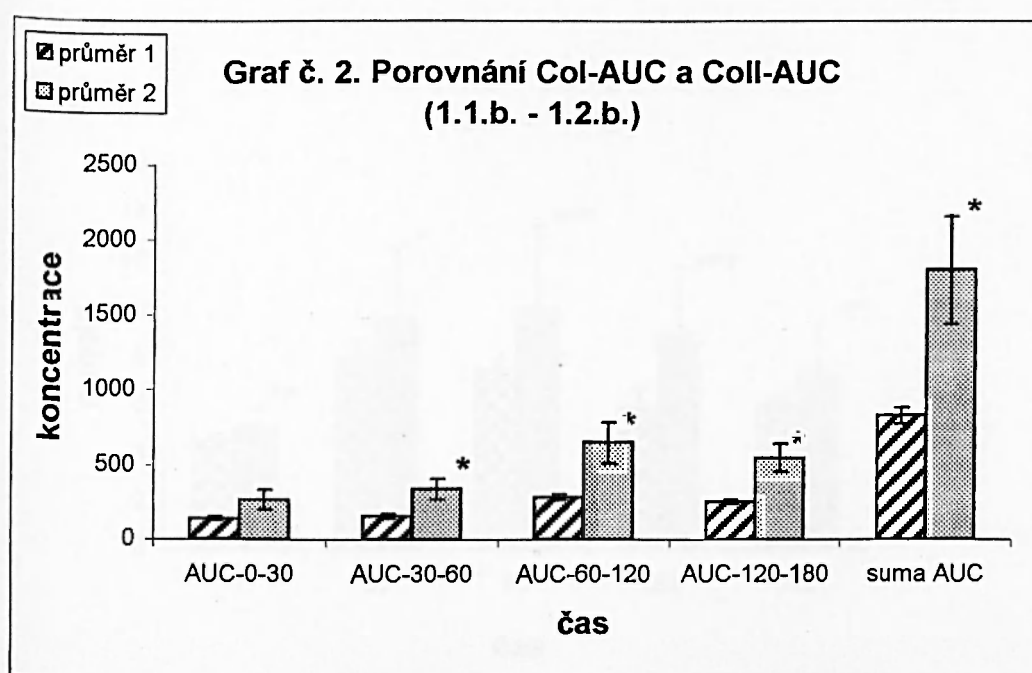


Změna basální glykémie u Coli skupiny ve srovnání s Col skupinou nebyla statisticky významná a také v 60.minutě odběru nebyla nalezena statisticky významná odlišnost hodnot hladin glykémie. Ve 30., 120. a 180.minutě glykemické křivky jsme prokázali statisticky významnou neshodu rozptylů hodnot glykémie (*P je menší než 0,05*).

Porovnání Col-AUC a Coll-AUC (1.1.b. - 1.2.b.)

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 1	135,43	153,86	283,71	258,43	831,43
průdch	10,35	12,55	14,33	10,90	39,37
smodch	13,30	17,30	19,20	14,12	54,58

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 2	266,00	340,00	648,00	553,00	1807,00
průdch	45,33	48,67	92,00	67,33	248,33
smodch	66,09	71,31	133,73	91,11	359,98



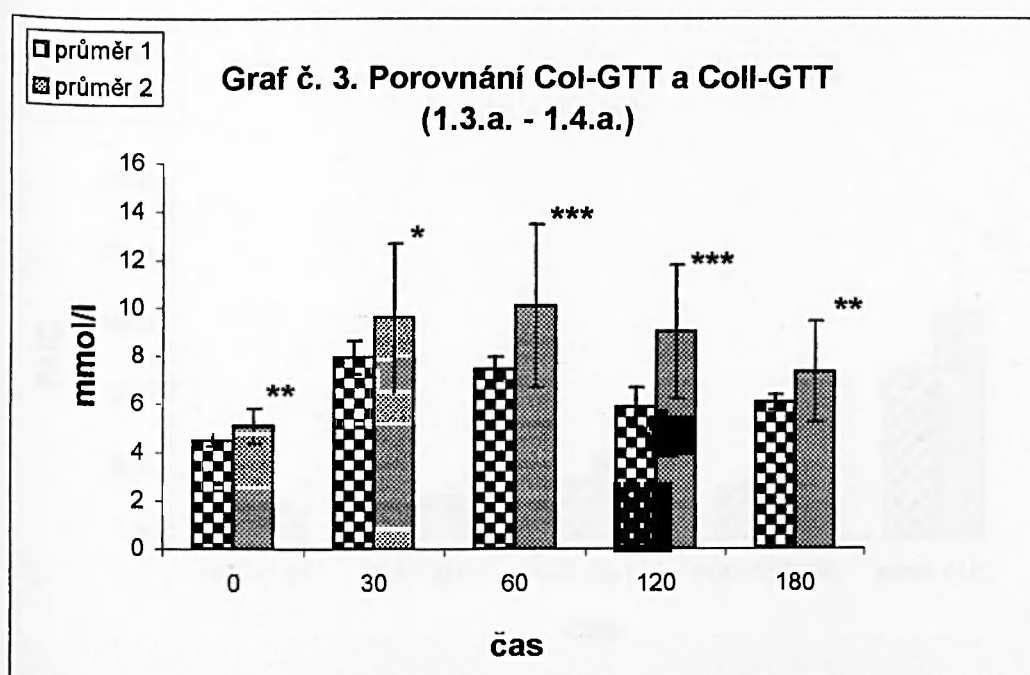
Změna AUC mezi 0.- 30.minutou u Coll nebyla statisticky významná. Mezi 30.-60., 60.-120., 12.-180.minutou byly nalezeny statisticky významně vyšší hodnoty u Coll skupiny oproti Col skupině (*P je menší než 0,05*). Při hodnocení sumy AUC byla nalezena taktéž statisticky významně vyšší hodnota u Coll skupiny (*P je menší než 0,05*). Suma AUC u Coll skupiny byla o 54% větší než suma u Col skupiny.

Třetí pásmo:

Porovnání Col-GTT a Coll-GTT (1.3.a. - 1.4.a.), (n=6/12)

	0	30	60	120	180
průměr 1	4,50	7,95	7,45	5,85	6,07
průdch	0,20	0,45	0,40	0,60	0,27
smodch	0,26	0,68	0,48	0,82	0,31

	0	30	60	120	180
průměr 2	5,09	9,59	10,06	8,98	7,33
průdch	0,64	1,66	2,35	1,87	1,36
smodch	0,72	3,09	3,39	2,78	2,11

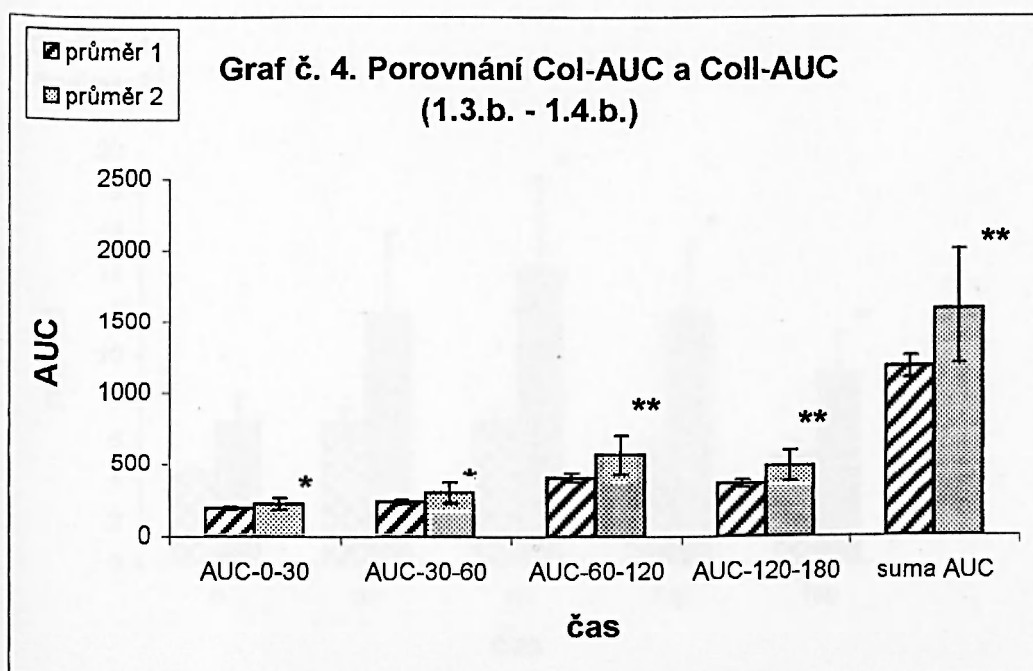


Při porovnání Col a Coll skupiny jsme našli tyto statisticky významné odlišnosti glukózové toleranční křivky: u Coll skupiny jsme zjistili statisticky významné zvýšení basální glykémie (P je menší než 0,01), zvýšená hladina glykémie byla také nalezena ve 30. minutě (P je menší než 0,05), v 60. minutě (P je menší než 0,001), ve 120. minutě (P je menší než 0,001) a také ve 180. minutě (P je menší než 0,01).

Porovnání Col-AUC a Coll-AUC (1.3.b. - 1.4.b.)

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 1	186,75	231,00	399,00	357,50	1174,25
průdch	7,25	10,50	25,00	19,50	58,75
smodch	9,71	13,38	34,05	28,36	74,91

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 2	220,25	294,75	571,00	489,25	1597,75
průdch	32,71	59,13	122,30	83,33	311,33
smodch	40,71	71,37	145,99	113,97	405,11



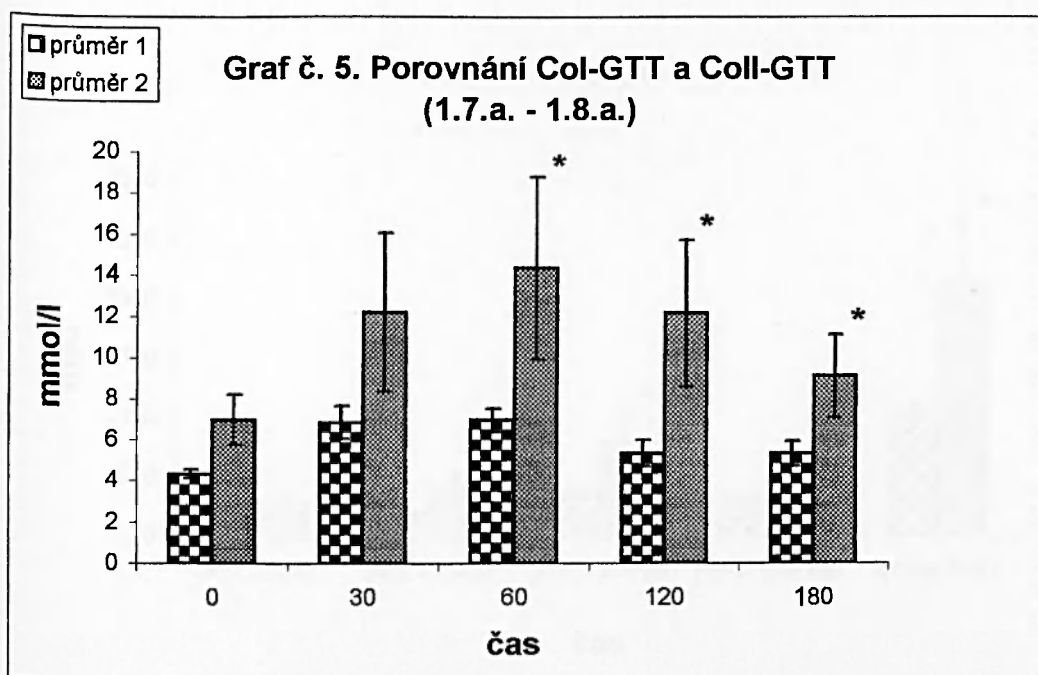
Při porovnání plochy pod křivkou u Col a Coli skupiny jsme našli v rozmezí mezi 0.-30.minutou u Coll skupiny hodnoty statisticky významně vyšší (P je menší než 0,05) než u Col skupiny. Stejný, statisticky významný rozdíl jsme našli mezi 30.-60.minutou (P je menší než 0,05). Mezi 60.-120. a 120.-180.minutou jsme také našli statisticky významně zvýšené hodnoty (P je menší než 0,01). Porovnání sumy SUC Col a Coll skupiny ukázalo statisticky významně vyšší hodnoty u Coll skupiny (P je menší než 0,01). Suma AUC u Coll skupiny byla o 27% větší než suma u Col skupiny.

Čtvrté pásmo:

Porovnání Col-GTT a Coll-GTT (1.7.a. - 1.8.a.), (n=7/4)

	0	30	60	120	180
průměr 1	4,33	6,87	6,96	5,33	5,34
průodch	0,15	0,63	0,44	0,46	0,44
smodch	0,20	0,81	0,57	0,63	0,61

	0	30	60	120	180
průměr 2	7,00	12,20	14,35	12,15	9,15
průodch	0,95	3,15	3,03	2,58	1,55
smodch	1,24	3,84	4,45	3,55	2,03

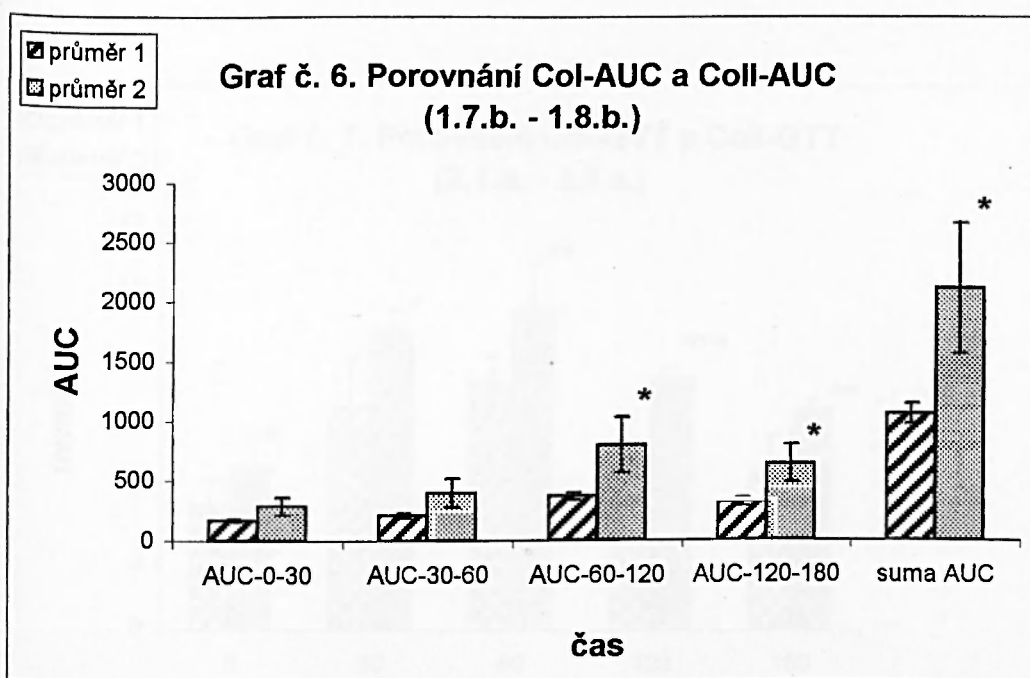


Při porovnání Col a Coll skupiny bylo nalezeno statisticky významné zvýšení hladiny glykémie v 60., 120. a 180. minutě (*P je menší než 0,05*). Statisticky významný rozdíl nebyl prokázán u basální glykémie ani při odběru ve 30. minutě.

Porovnání Col-AUC a Coll-AUC (1.7.b. - 1.8.b.)

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 1	168,00	207,43	368,57	320,14	1064,14
průdch	8,57	13,35	24,37	25,59	66,31
smodch	10,71	18,20	28,32	33,03	84,82

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 2	288,00	398,25	795,00	639,00	2120,25
průdch	61,50	85,50	168,00	109,50	399,38
smodch	75,96	120,15	233,91	158,18	546,45



Při porovnání plochy pod křivkou těchto dvou kontrolních skupin jsme u Coll skupiny našli statisticky významně vyšší hodnoty AUC mezi 60.-120., 120.-180.minutou (*P je menší než 0,05*). Při hodnocení sumy AUC byla nalezena statisticky významně vyšší hodnota u Coll skupiny (*P je menší než 0,05*). Suma AUC u Coll skupiny byla o 50% větší než suma u Col skupiny.

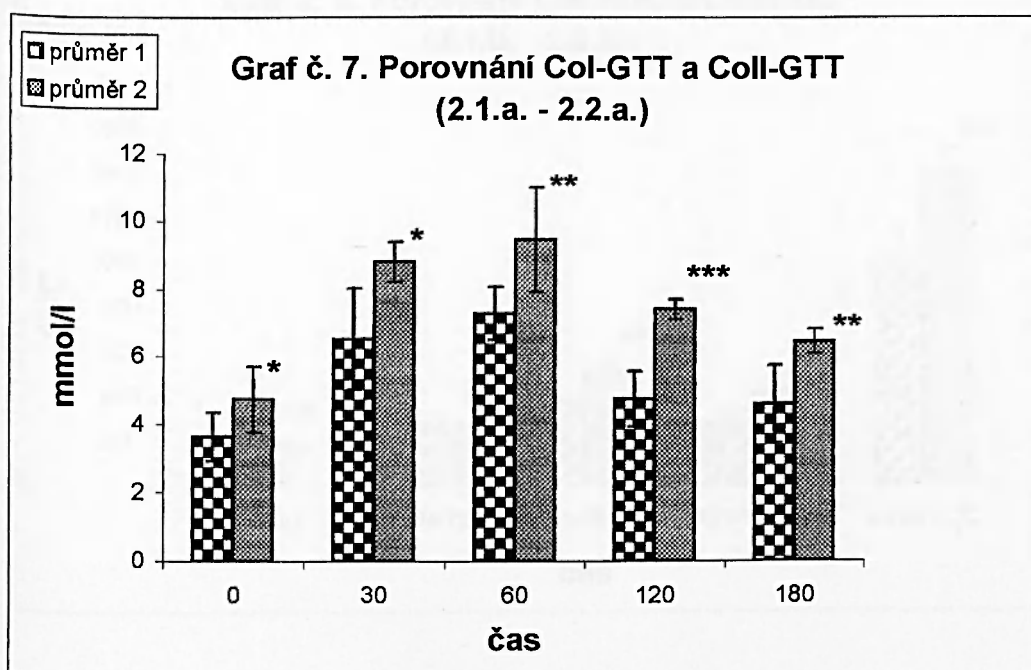
SKUPINA 2 - samice NR

První pásmo:

Porovnání Col-GTT a Coll-GTT (2.1.a. - 2.2.a.), (n=8/4)

	0	30	60	120	180
průměr 1	3,65	6,55	7,29	4,76	4,63
průdch	0,55	1,10	0,64	0,55	0,78
smodch	0,71	1,50	0,78	0,81	1,14

	0	30	60	120	180
průměr 2	4,75	8,83	9,45	7,43	6,48
průdch	0,73	0,39	1,13	0,21	0,24
smodch	0,97	0,58	1,54	0,30	0,37

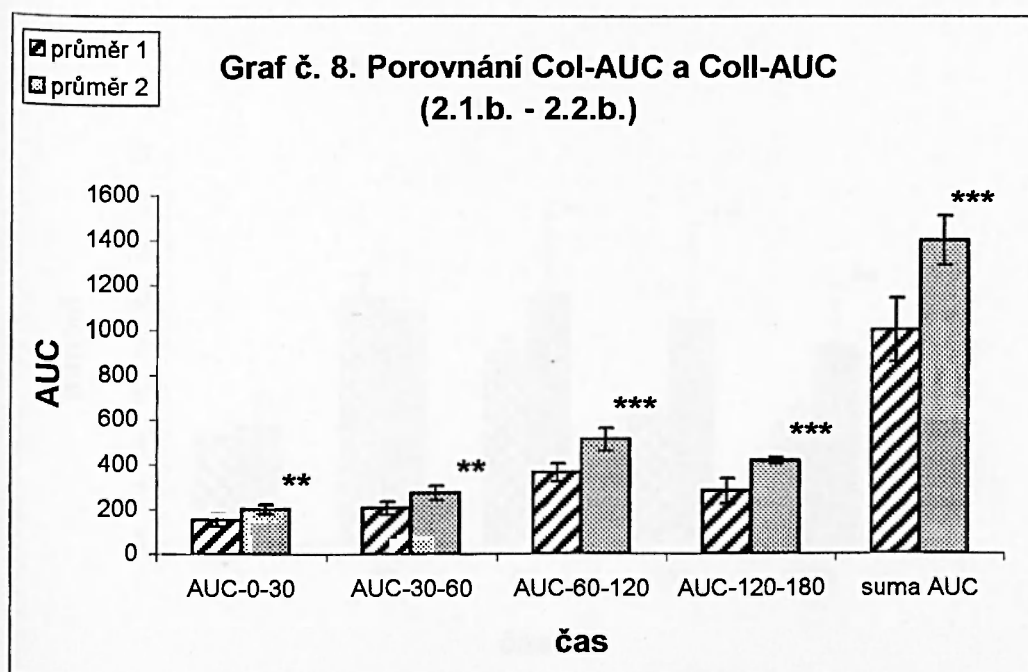


Při porovnání hodnot glykemické křivky Col a Coll skupiny jsme našli statisticky významné zvýšení glykémie u Coll skupiny při stanovení basální glykémie (*P* je menší než 0,05), ve 30.minutě odběru (*P* je menší než 0,05), v 60.minutě odběru (*P* je menší než 0,01), ve 120.minutě (*P* je menší než 0,001) a také ve 180.minutě odběru (*P* je menší než 0,01).

Porovnání Col-AUC a Coll-AUC (2.1.b. - 2.2.b.)

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 1	153,00	207,56	361,50	281,63	1003,69
průodch	19,88	23,06	30,00	37,03	102,23
smodch	27,06	30,44	39,90	55,58	143,75

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 2	203,63	274,13	506,25	417,00	1401,00
průodch	16,69	22,69	37,88	12,00	81,75
smodch	22,46	30,31	50,76	14,07	110,38



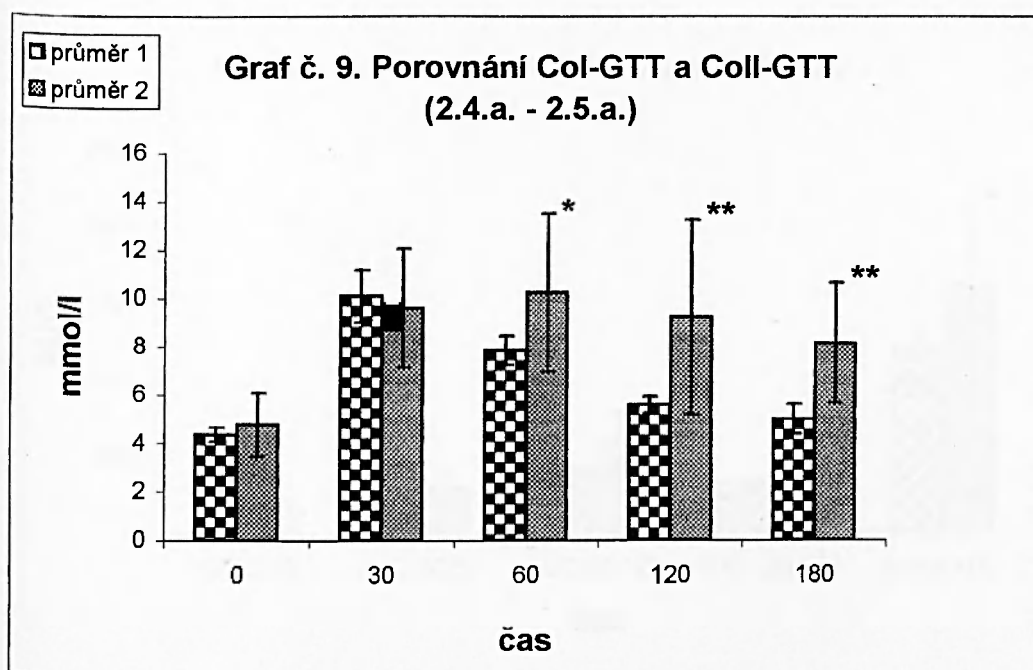
Při porovnání plochy pod křivkou téže skupiny jsme našli statisticky významně vyšší hodnoty u Coll skupiny. V pásmu 0.-30.minuta (*P je menší než 0,01*), v pásmu 30.-60.minuta (*P je menší než 0,01*), v pásmu 60.-120.minuta (*P je menší než 0,001*), v pásmu 12.-180.minuta (*P je menší než 0,001*). Při porovnání sumy AUC jsme také našli statisticky významně vyšší hodnoty u Coll skupiny (*P je menší než 0,001*). U Coll skupiny se objevil nárůst sumy AUC o 28% oproti Col skupině.

Druhé pásmo:

Porovnání Col-GTT a Coll-GTT (2.4.a. - 2.5.a.), (n=6/12)

	0	30	60	120	180
průměr 1	4,35	10,10	7,83	5,57	5,00
průodch	0,23	0,87	0,44	0,23	0,40
smodch	0,29	1,06	0,61	0,34	0,62

	0	30	60	120	180
průměr 2	4,78	9,59	10,22	9,21	8,17
průodch	1,01	1,89	2,37	3,05	2,06
smodch	1,30	2,44	3,27	4,03	2,49

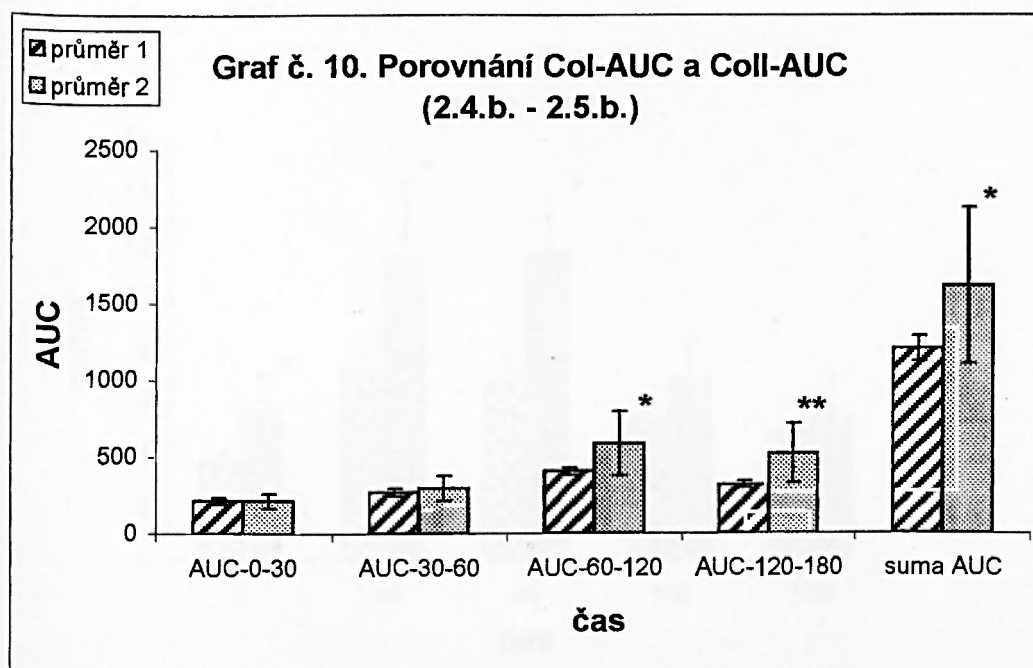


Při porovnání glykemické křivky Col a Coll skupiny jsme našli statisticky významné zvýšení hodnot glykémie v 60.minutě (*P* je menší než 0,05), ve 120.minutě (*P* je menší než 0,01) a ve 180.minutě (*P* je menší než 0,01).

Porovnání Col-AUC a Coll-AUC (2.4.b. - 2.5.b.)

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 1	216,75	269,00	402,00	317,00	1204,75
průdch	15,75	19,50	19,00	15,67	64,83
smodch	19,69	24,91	24,37	23,67	82,88

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 2	215,63	297,13	582,75	521,25	1616,75
průdch	36,81	63,42	160,50	151,00	403,17
smodch	47,57	81,94	209,83	192,97	510,92



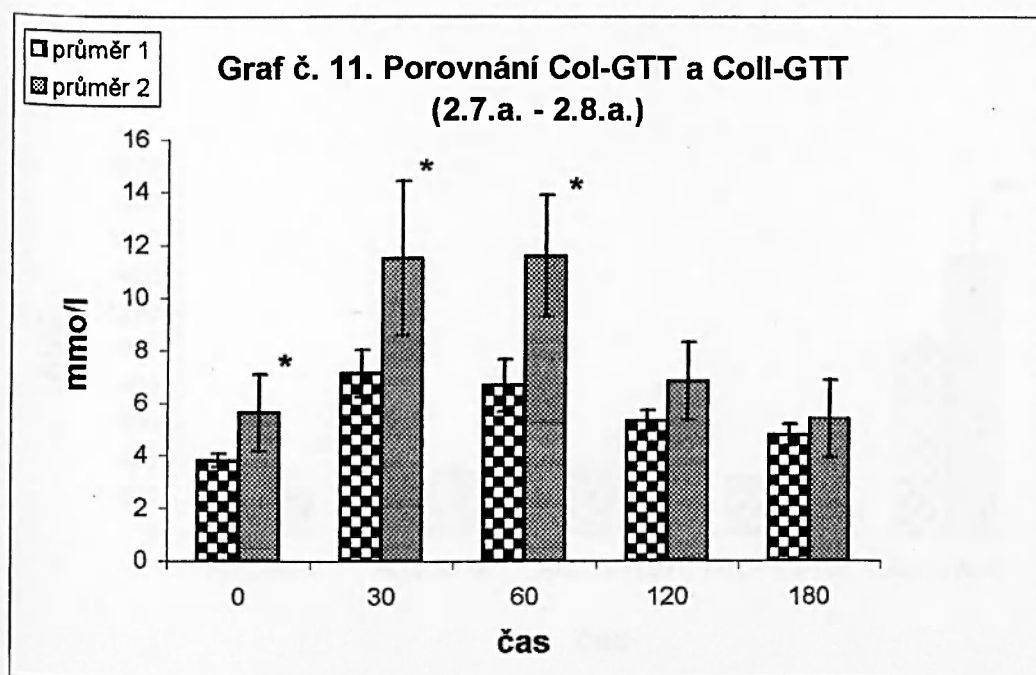
Když jsme porovnali plochu pod křivkou u Col a Coli skupiny, našli jsme statisticky významně vyšší hodnoty mezi 60.-120.minutou (*P je menší než 0,05*), mezi 120.-180. minutou (*P je menší než 0,01*) a také suma AUC byla u Coll skupiny statisticky významně vyšší (*P je menší než 0,05*). U Coll skupiny se objevil nárůst sumy AUC o 26% oproti sumě AUC u Col skupiny.

Třetí pásmo:

Porovnání Col-GTT a Coll-GTT (2.7.a. - 2.8.a.), (n=7/6)

	0	30	60	120	180
průměr 1	3,81	7,14	6,67	5,33	4,79
průodch	0,22	0,67	0,86	0,32	0,31
smodch	0,25	0,89	0,99	0,41	0,42

	0	30	60	120	180
průměr 2	5,65	11,52	11,58	6,83	5,42
průodch	1,10	2,29	1,95	1,24	1,05
smodch	1,47	2,91	2,30	1,46	1,47

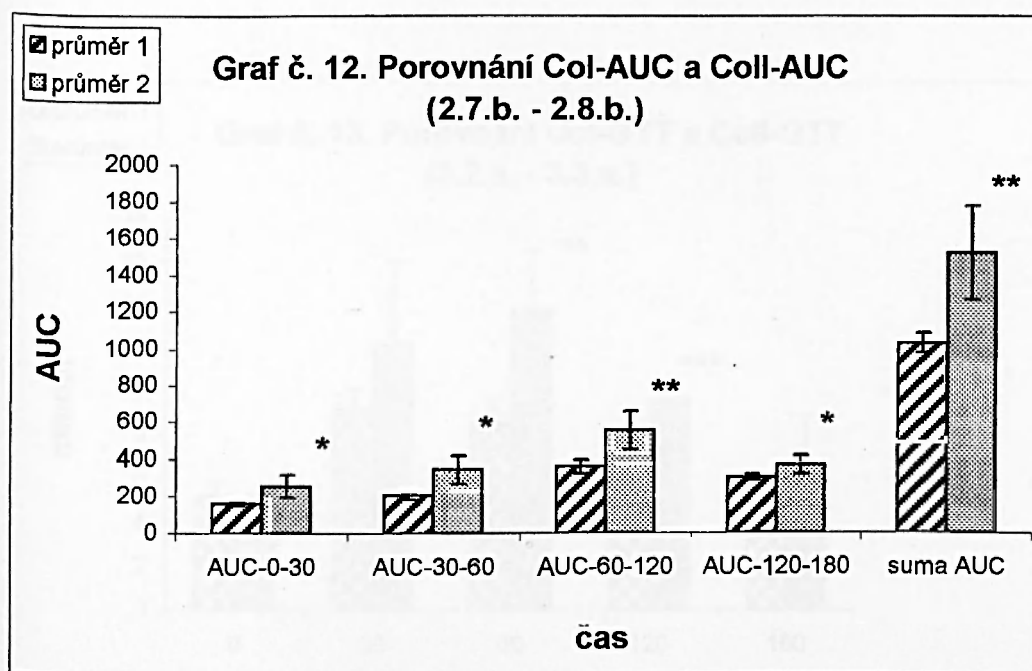


Zde se objevila statisticky významně vyšší hodnota glykémie u Coll skupiny při stanovení basální glykémie, ve 30.minutě odběru a v 60.minutě odběru (*P je menší 0,05*). Na rozdíl od předchozích porovnání se neobjevilo statisticky významné zvýšení ve 120. a 180.minutě glykemické křivky.

Porovnání Col-AUC a Coll-AUC (2.7.b. - 2.8.b.)

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 1	164,36	207,21	360,00	303,43	1035,00
průdch	9,73	16,10	29,14	11,51	47,14
smodch	12,69	19,83	35,67	14,74	53,55

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 2	257,50	346,50	552,50	367,50	1524,00
průdch	45,33	59,00	85,50	38,50	218,00
smodch	60,43	74,77	104,17	47,54	252,26



Porovnání plochy pod křivkou u zvířat popisovaných na předchozí straně nám ukázalo, že došlo k výskytu statisticky významně vyšších hodnot u Coll skupiny a to mezi 0.-30.minutou (*P je menší než 0,05*), mezi 30.-60.minutou (*P je menší než 0,05*), mezi 60.-120.minutou (*P je menší než 0,01*) i mezi 120.-180.minutou (*P je menší než 0,05*). Také porovnání sumy AUC obou skupin ukázalo statisticky významně vyšší hodnoty u Coll skupiny (*P je menší než 0,01*). Suma AUC u Coll skupiny byla o 32% větší než u Col skupiny.

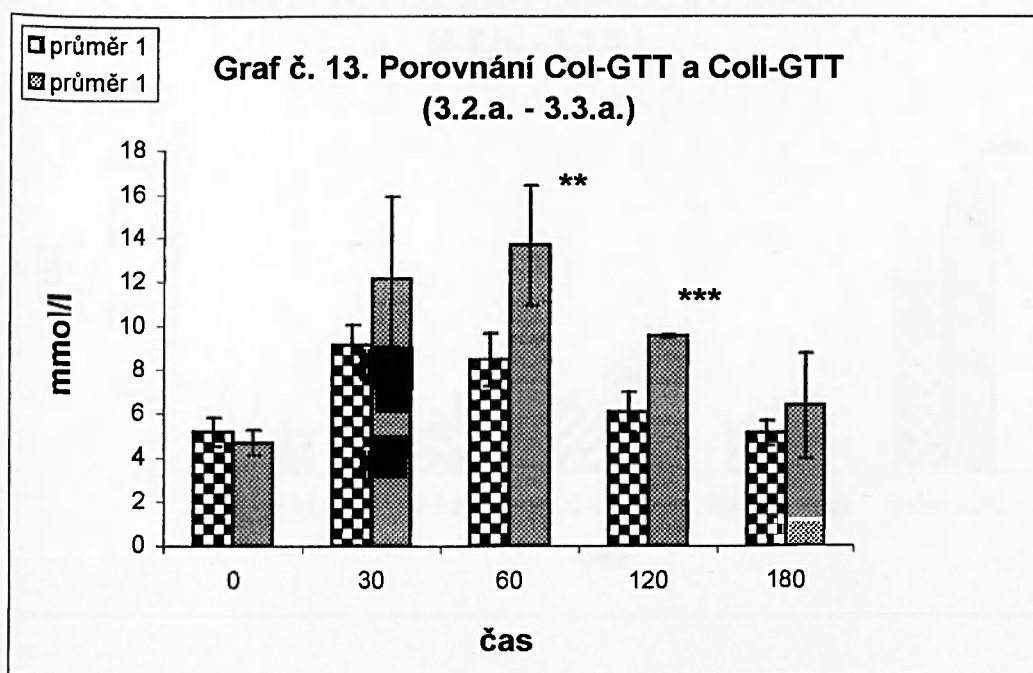
SKUPINA 3 - samci SHR

Druhé pásmo:

Porovnání Col-GTT a Coll-GTT (3.2.a. - 3.3.a.), (n=8/2)

	0	30	60	120	180
průměr 1	5,18	9,18	8,46	6,05	5,15
průdch	0,52	0,64	0,83	0,66	0,46
smodch	0,66	0,91	1,20	0,90	0,57

	0	30	60	120	180
průměr 1	4,70	12,15	13,65	9,55	6,40
průdch	0,40	2,65	1,95	0,05	1,70
smodch	0,57	3,75	2,76	0,07	2,40

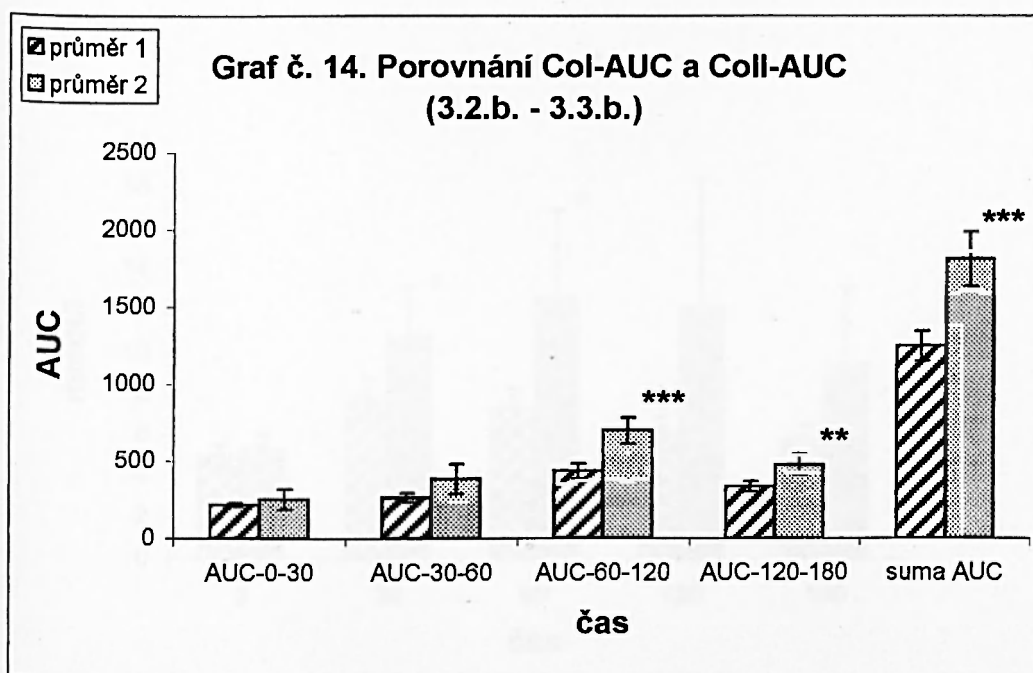


Při porovnání těchto dvou skupin jsme našli statisticky významně vyšší hodnoty glykémie u Coll skupiny v 60.minutě (*P je menší než 0,01*) a v 120.minutě (*P je menší než 0,001*).

Porovnání Col-AUC a Coll-AUC (3.2.b. - 3.3.b.)

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 1	215,25	264,56	435,38	336,00	1251,19
průdch	9,75	19,59	40,22	24,00	79,69
smodch	13,10	28,74	49,72	32,75	97,47

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 2	252,75	387,00	696,00	478,50	1814,25
průdch	45,75	69,00	60,00	49,50	125,25
smodch	64,70	97,58	84,85	70,00	177,13



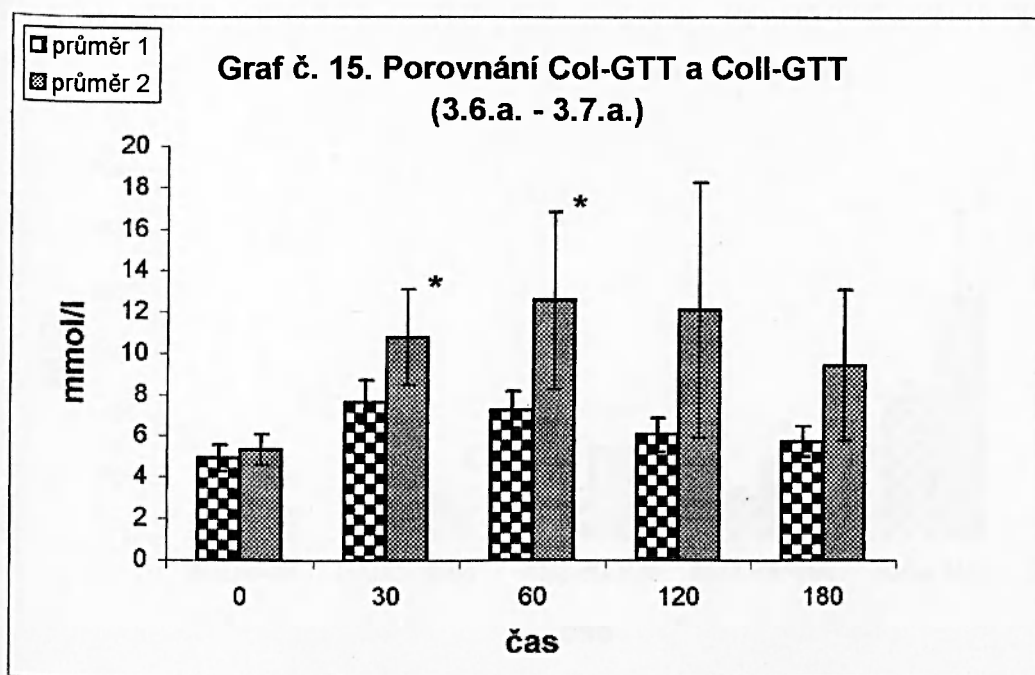
Porovnání plochy pod křivkou těchto skupin ukázalo statisticky významně vyšší hodnoty u Coll skupiny mezi 60.-120.minutou (*P je menší než 0,001*) a mezi 120.-180. minutou (*P je menší než 0,01*). Když jsme porovnali sumu AUC obou skupin, našli jsme statisticky významně vyšší hodnoty u Coll skupiny (*P je menší než 0,001*). Suma AUC byla u Coll skupiny o 31% větší než suma u Col skupiny.

Třetí pásmo:

Porovnání Col-GTT a Coll-GTT (3.6.a. - 3.7.a.), (n=11/6)

	0	30	60	120	180
průměr 1	4,94	7,66	7,26	6,05	5,75
průdch	0,50	0,77	0,68	0,63	0,53
smodch	0,63	1,06	0,90	0,84	0,72

	0	30	60	120	180
průměr 2	5,33	10,78	12,55	12,07	9,45
průdch	0,63	1,92	3,13	4,99	3,03
smodch	0,74	2,29	4,27	6,18	3,66

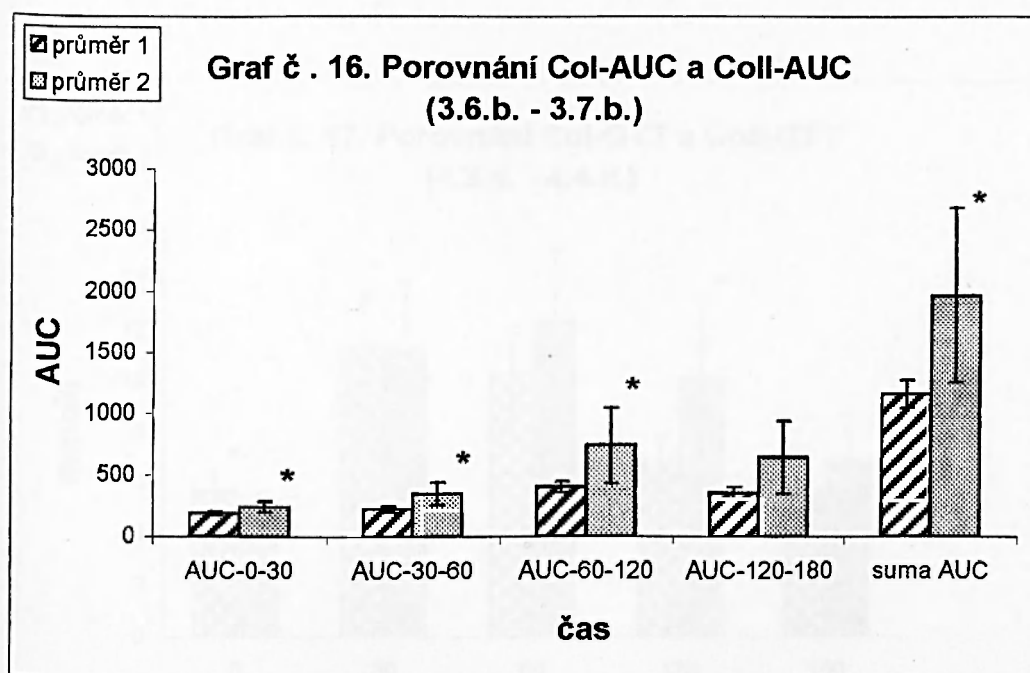


Porovnáním glykemických křivek Col a Coli skupiny jsme zjistili, že u Coll skupiny je statisticky významné zvýšení glykémie ve 30. a 60. minutě (*P* je menší než 0,05).

Porovnání Col-AUC a Coll-AUC (3.6.b. - 3.7.b.)

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 1	189,00	223,91	399,27	354,00	1166,18
průdch	13,64	20,36	34,12	33,27	94,17
smodch	16,64	25,30	44,24	44,56	113,91

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 2	241,75	350,00	738,50	645,50	1975,75
průdch	34,25	73,50	237,67	240,67	553,83
smodch	43,61	90,56	309,42	294,68	712,50



U týchž skupin zvířat jsme porovnali plochy pod křivkou a zjistili jsme, že v rozmezí 0.-30.minuta, 30.-60.minuta a 60.-120.minuta se objevily statisticky významně vyšší hodnoty u Coll skupiny (*P je menší než 0,05*). Při porovnání sumy AUC Col a Coll skupiny jsme našli také statisticky významně vyšší hodnoty u Coll skupiny (*P je menší než 0,05*). Suma AUC u Coll skupiny byla o 41% větší než suma u Col skupiny.

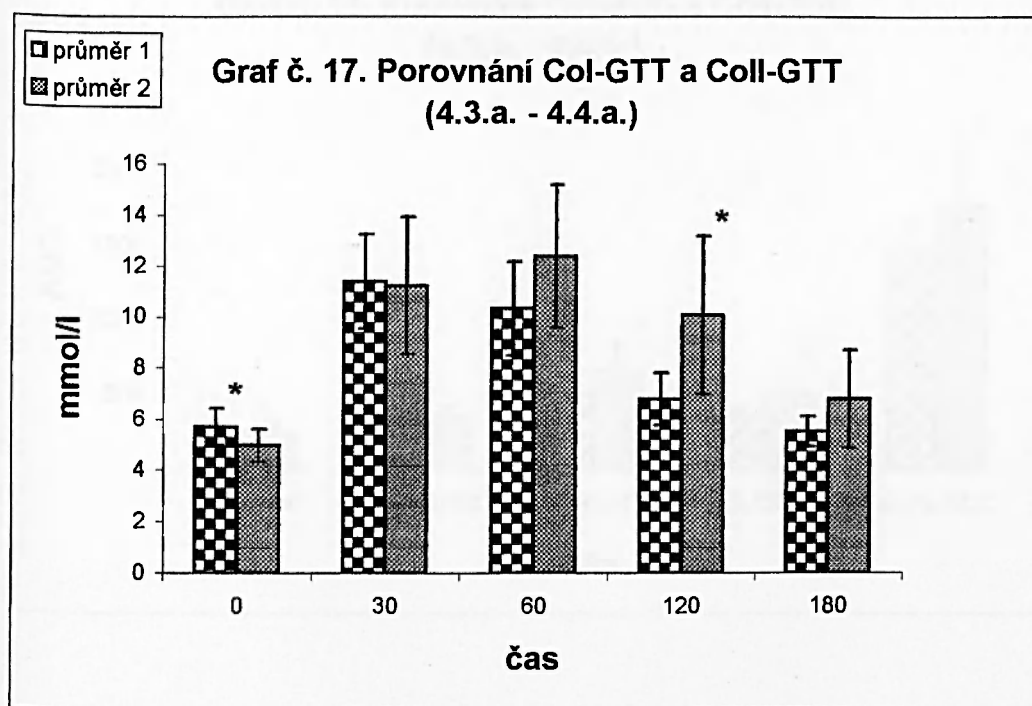
SKUPINA 4 - samice SHR

Druhé pásmo:

Porovnání Col-GTT a Coll-GTT (4.3.a - 4.4.a.), (n=8/11)

	0	30	60	120	180
průměr 1	5,70	11,41	10,33	6,78	5,55
průodch	0,50	1,44	1,51	0,68	0,40
smodch	0,72	1,85	1,86	1,03	0,60

	0	30	60	120	180
průměr 2	4,99	11,24	12,37	10,07	6,82
průodch	0,39	1,91	2,19	2,35	1,58
smodch	0,63	2,70	2,80	3,10	1,93

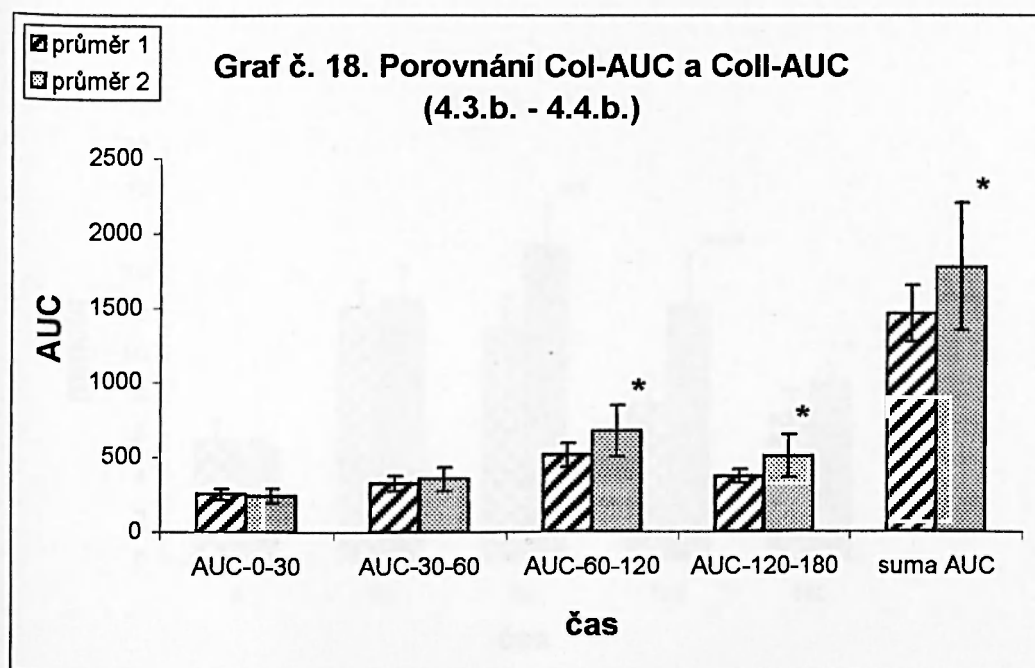


Při porovnání Col a Coll jsme našli statisticky významné zvýšení glykémie při stanovení basální glykémie (*P je menší než 0,05*) u Coll skupiny. U téže skupiny jsme také našli statisticky významné zvýšení glykémie ve 120.minutě (*P je menší než 0,05*).

Porovnání Col-AUC a Coll-AUC (4.3.b. - 4.4.b.)

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 1	256,69	326,06	513,00	369,75	1465,50
průdch	27,23	42,33	63,75	28,69	162,00
smodch	36,34	50,94	79,02	43,61	191,84

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 2	243,41	354,14	673,36	506,73	1777,64
průdch	31,41	58,26	132,94	112,02	325,26
smodch	47,96	78,19	173,18	142,90	425,91



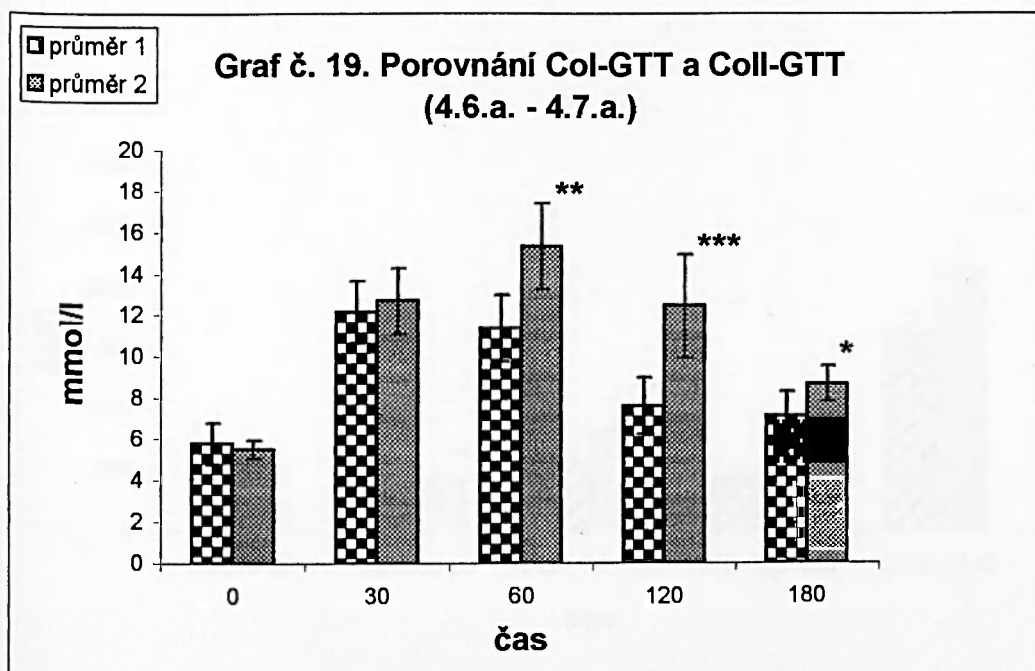
U stejných skupin zvířat jako na předchozí straně jsme porovnali plochy pod křivkou. U Coll skupiny jsme našli statisticky významně větší hodnoty mezi 60.-120.minutou (P je menší než, 0,05), mezi 120.-180.minutou (P je menší než 0,05). Porovnání sumy AUC ukázalo u Coll skupiny statisticky významně vyšší hodnoty oproti Col skupině zvířat (0,05). Suma AUC byla u Coll skupiny o 18% větší než suma u Col skupiny.

Třetí pásmo:

Porovnání Col-GTT a Coll-GTT (4.6.a. - 4.7.a.), (n=9/5)

	0	30	60	120	180
průměr 1	5,78	12,14	11,33	7,57	7,11
průdch	0,84	0,94	1,36	0,84	0,90
smodch	1,01	1,50	1,60	1,37	1,18

	0	30	60	120	180
průměr 2	5,52	12,68	15,30	12,40	8,68
průdch	0,34	1,10	1,76	1,84	0,70
smodch	0,43	1,60	2,07	2,52	0,84

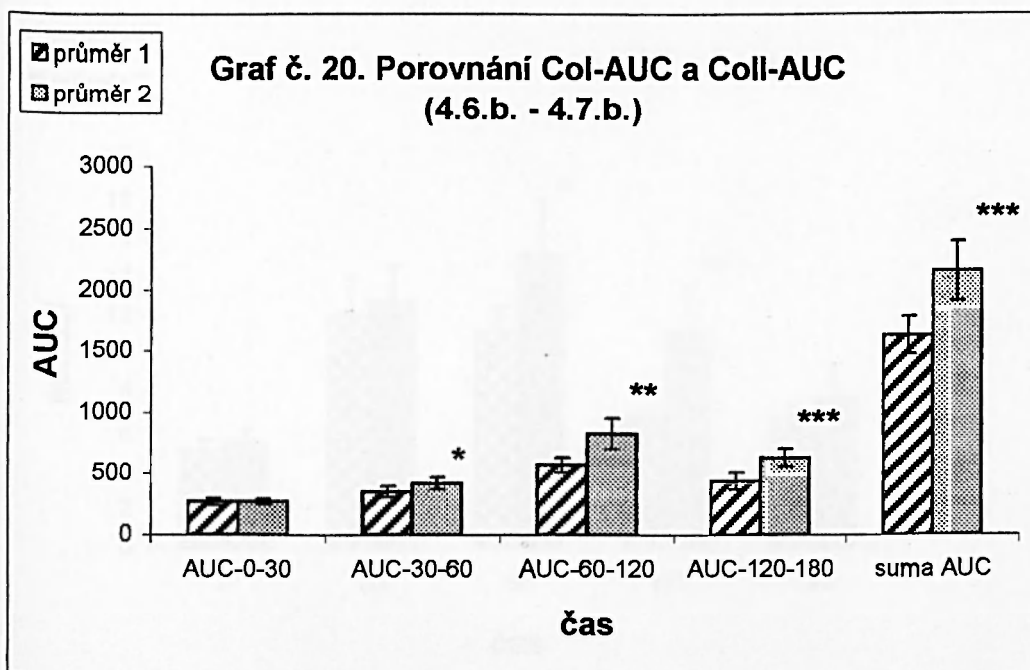


Při porovnání hladiny glykémie u Col a Coll skupiny jsme našli statisticky významně vyšší hodnoty u Coll skupiny v 60.minutě (*P je menší než 0,01*), ve 120.minutě (*P je menší než 0,001*) a ve 180.minutě (*Pj e menší než 0,05*) odběru krve.

Porovnání Col-AUC a Coll-AUC (4.6.b. - 4.7.b.)

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 1	268,83	352,17	567,00	440,33	1628,33
průdch	22,70	34,04	48,67	49,93	114,59
smodch	27,45	43,19	63,20	68,96	157,58

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 2	273,00	419,70	831,00	632,40	2156,10
průdch	15,60	42,84	97,20	52,32	184,92
smodch	20,35	51,39	127,24	76,23	239,26

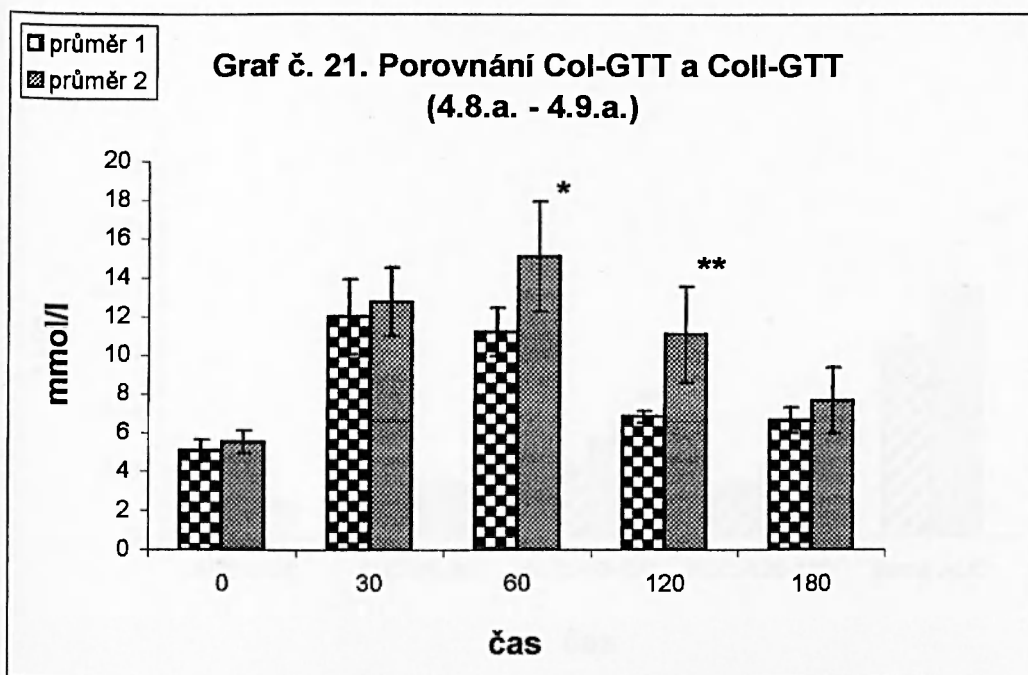


Při porovnání těchto dvou skupin jsme, kromě intervalu 0.-30.minuta, našli ve všech intervalech výpočtu plochy pod křivkou statisticky významně zvýšené hodnoty u Coll skupiny. Zvýšení bylo nalezeno tedy mezi 30.-60.minutou (*P je menší než 0,05*), mezi 60.-120.minutou (*P je menší než 0,01*), mezi 120.-180.minutou (*P je menší než 0,001*). Když jsme porovnali sumy AUC obou skupin, našli jsme statisticky významně zvýšené hodnoty u Coll skupiny (*P je menší než 0,001*). Suma AUC byla u Coll skupiny o 24% větší než suma u Col skupiny.

Porovnání Col-GTT a Coll-GTT (4.8.a. - 4.9.a.), (n=4/7)

	0	30	60	120	180
průměr 1	5,08	12,00	11,20	6,85	6,70
průdch	0,43	1,30	1,00	0,23	0,50
smodch	0,55	1,95	1,25	0,31	0,68

	0	30	60	120	180
průměr 2	5,54	12,76	15,10	11,10	7,71
průdch	0,49	1,39	1,89	2,09	1,36
smodch	0,60	1,76	2,83	2,49	1,71

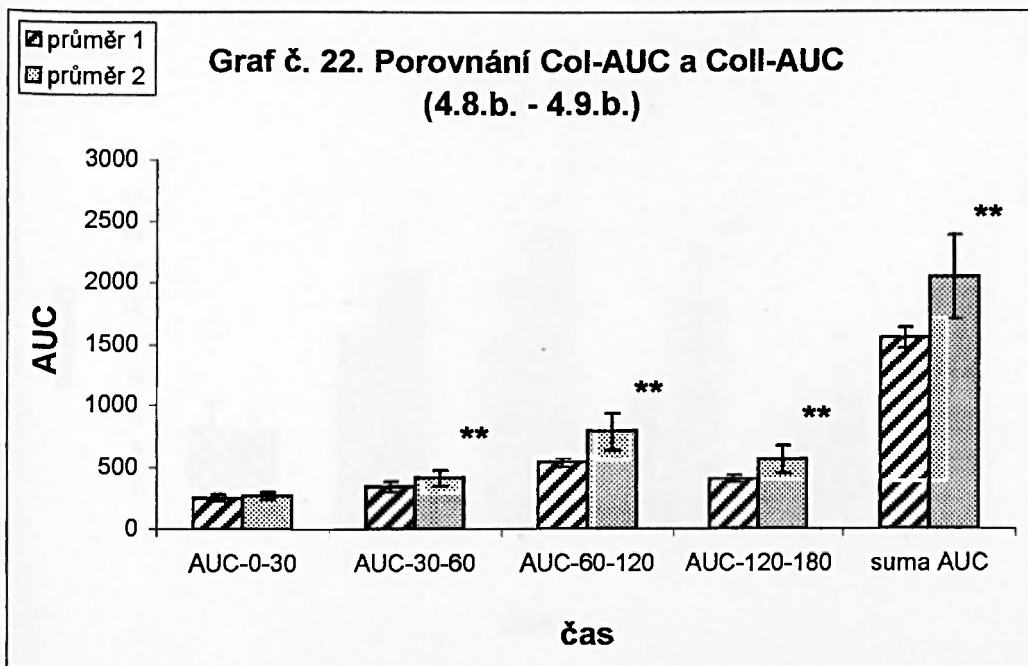


Zde jsme při porovnání glykemických křivek těchto skupin našli statisticky významně vyšší hodnotu glykémie v 60.minutě (*P je menší než 0,05*) a ve 120.minutě (*P je menší než 0,01*) u Coli skupiny.

Porovnání Col-AUC a Coll-AUC (4.8.b. - 4.9.b.)

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 1	256,13	348,00	541,50	406,50	1552,13
průdch	21,38	34,50	27,00	21,00	70,88
smodch	26,98	41,84	36,70	29,24	84,52

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 2	274,50	417,86	786,00	564,43	2042,79
průdch	24,86	44,02	104,57	87,92	250,90
smodch	32,63	65,37	146,19	111,57	340,43

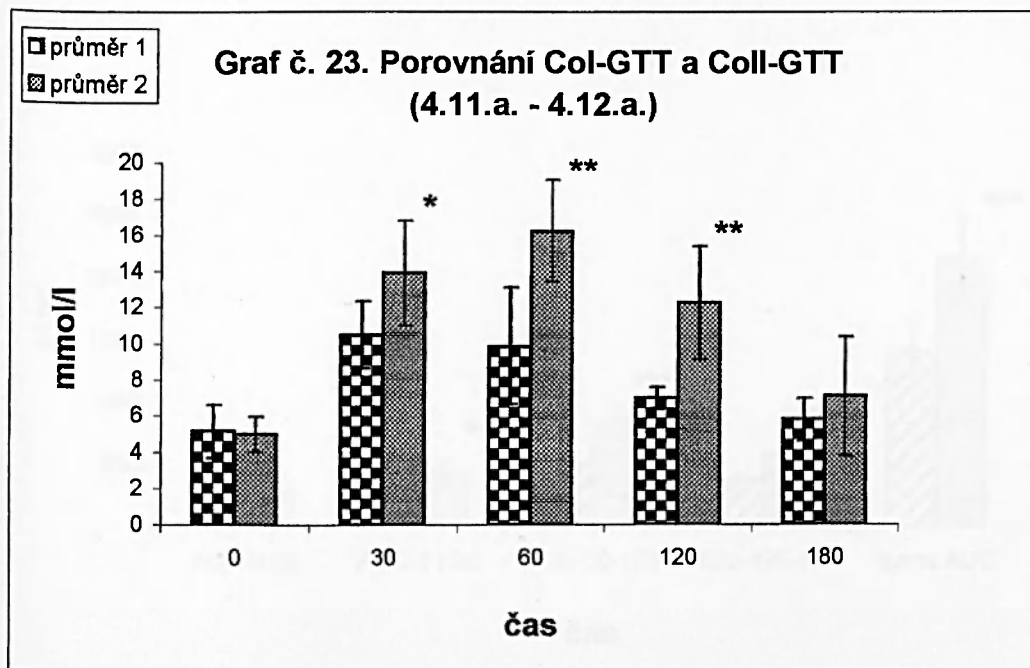


Porovnání plochy pod křivkou těchto skupin zvířat přineslo zjištění, že k výskytu statisticky významně vyšších hodnot došlo mezi 30.-60.minutou (*P je menší než 0,01*), mezi 60.-120.minutou (*P je menší než 0,01*), mezi 120.-180.minutou (*P je menší než 0,01*). Při srovnání sumy AUC jednotlivých skupin se u Coll skupiny objevilo statisticky významné zvýšení hodnot (*P je menší než 0,01*). Suma AUC byla u Coll skupiny o 24% větší než suma AUC u Col skupiny.

Porovnání Col-GTT a Coll-GTT (4.11.a. - 4.12.a.), (n=6/7)

	0	30	60	120	180
průměr 1	5,15	10,48	9,83	6,97	5,78
průodch	1,17	1,48	2,36	0,40	0,78
smodch	1,45	1,84	3,23	0,59	1,19

	0	30	60	120	180
průměr 2	5,00	13,89	16,20	12,24	7,11
průodch	0,66	2,01	2,20	2,33	2,56
smodch	0,97	2,89	2,82	3,13	3,31

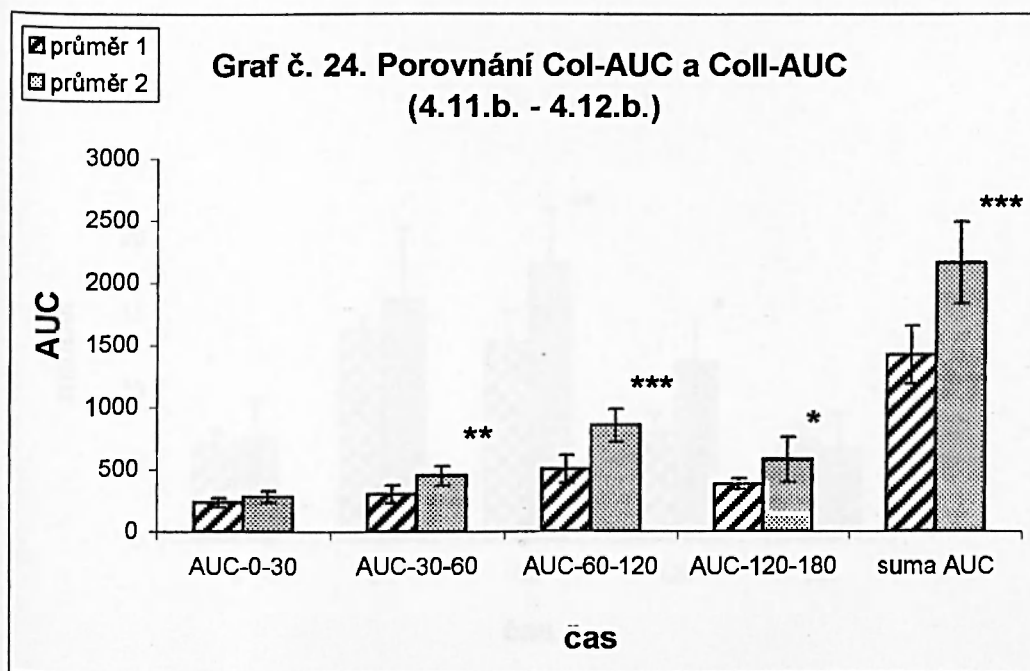


Podíváme-li se na grafické znázornění glykemických křivek Col a Coli skupiny vidíme, že statisticky významné zvýšení hodnot glykémie se objevuje u Coll skupiny ve 30. minutě odběru (*P je menší než 0,05*), v 60. minutě (*P je menší než 0,01*) a ve 120. minutě (*P je menší než 0,01*).

Porovnání Col-AUC a Coll-AUC (4.11.b. 4.12.b.)

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 1	234,50	304,75	504,00	382,50	1425,75
průdch	33,50	52,25	82,00	30,50	167,25
smodch	40,00	72,53	112,54	44,12	237,61

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 2	283,29	451,29	853,29	580,71	2168,57
průdch	33,55	59,69	106,53	139,59	270,06
smodch	45,62	79,29	131,41	182,89	327,74



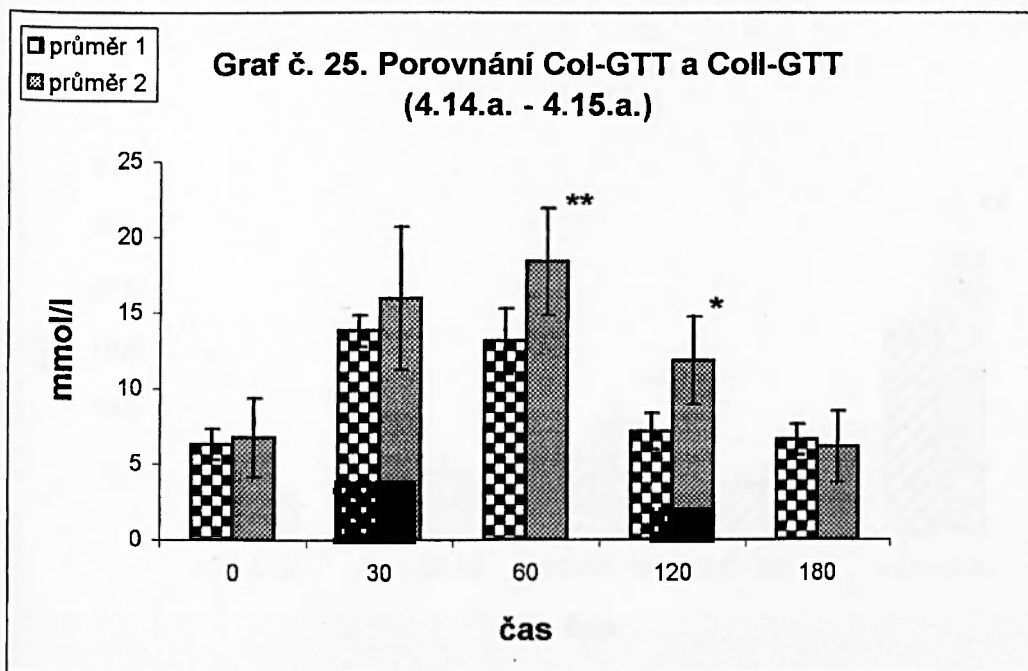
U Coll skupiny, v porovnání s Col skupinou, jsme našli statisticky významně vyšší hodnoty plochy pod křivkou v intervalu 30.-60.minuta (*P je menší než 0,01*), v 60.-120. minuta (*P je menší než 0,001*), v 120.-180.minuta (*P je menší než 0,05*). Porovnání sumy AUC obou skupin ukázalo statisticky významně vyšší hodnoty u Coll skupiny (*P je menší než 0,001*). Suma AUC byla u Coll skupiny o 34% větší než suma u Col skupiny.

Páté pásmo:

Porovnání Col-GTT a Coll-GTT (4.14.a. - 4.15.a.), (n=7/6)

	0	30	60	120	180
průměr 1	6,30	13,81	13,11	7,11	6,60
průdch	0,80	0,82	1,84	0,98	0,74
smodch	1,01	1,04	2,14	1,21	1,00

	0	30	60	120	180
průměr 2	6,77	15,97	18,37	11,82	6,13
průdch	2,16	3,70	2,72	2,12	1,70
smodch	2,61	4,71	3,54	2,88	2,35

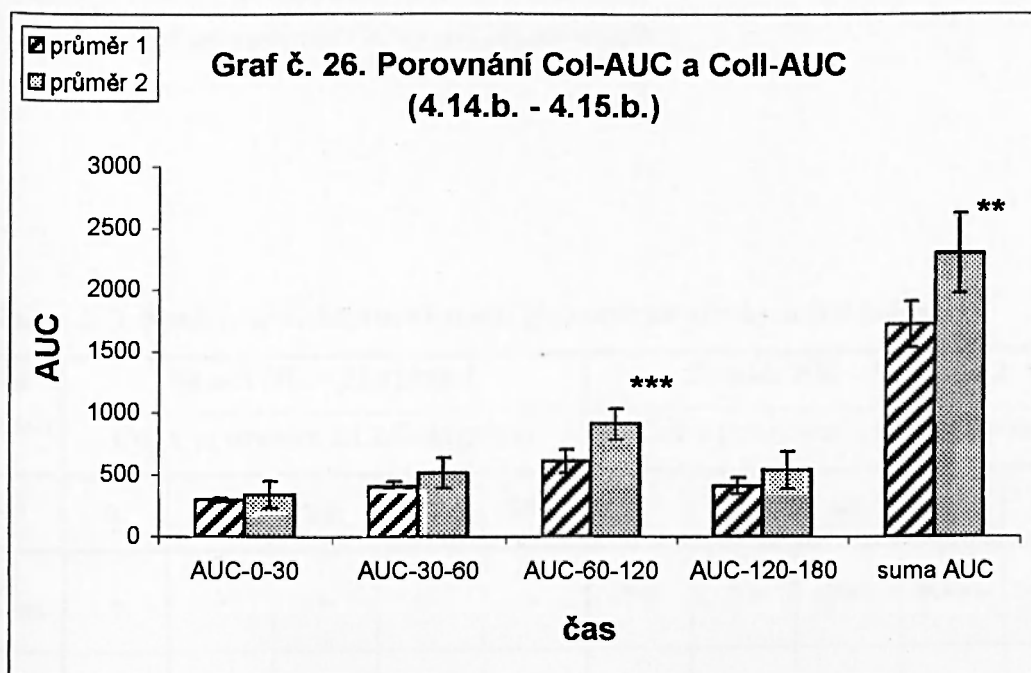


Při porovnání glykemické křivky Col a Coli skupiny jsme našli statisticky významně vyšší hodnoty v 60.minutě (*P je menší než 0,01*) a ve 120.minutě (*P je menší než 0,05*) odběru krve.

Porovnání Col-AUC a Coll-AUC (4.14.b. - 4.15.b.)

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 1	301,71	403,93	606,86	411,43	1723,93
průdch	14,33	32,08	84,73	50,20	165,37
smodch	16,89	39,73	94,26	64,72	185,68

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 2	341,00	515,00	905,50	538,50	2300,00
průdch	87,67	96,17	110,50	111,00	290,00
smodch	108,92	121,73	127,24	151,76	322,01



Zde se objevila statisticky významně vyšší hodnota mezi 60.-120.minutou (*P je menší než 0,001*) plochy pod křivkou. Porovnání sumy AUC Col a Coli skupiny ukázalo statisticky významně vyšší hodnoty u Coll skupiny (*P je menší než 0,01*). Suma AUC byla u Coll skupiny o 25% větší než suma u Col skupiny.

Souborné přehledy výsledků vlivu ischemie mozku na hladinu krevní glukosy u zvířat kmene Wistar a zvířat Koletského typu

Symbole použité v přehledech:

* = $P < 0,05$

⊕ = statisticky významná změna nastala

** = $P < 0,01$

∅ = statisticky významná změna nenastala

*** = $P < 0,001$

- v tomto pásmu nebyly experimenty provedeny

↑ = hodnota je vyšší (při porovnání CoI versus CoII, pak u CoII)

↓ = hodnota je nižší (při porovnání CoI versus CoII, pak u CoII)

Tabulka č. 3: Souborné znázornění změn glykemické křivky u NR zvířat

věk (měsíce)	Samci NR – Skupina 1					Samice NR – Skupina 2				
	CoI v porovnání s CoII skupinou					CoI v porovnání s CoII skupinou				
čas	0.	30.	60.	120.	180.	0.	30.	60.	120.	180.
1. pásmo	-	-	-	-	-	↑*	↑*	↑**	↑***	↑**
2. pásmo	↑	↑*	↑	↑*	↑*	↑	↑	↑*	↑***	↑**
3. pásmo	↑***	↑*	↑***	↑***	↑**	↑*	↑*	↑*	↑	↑
4. pásmo	↑	↑	↑*	↑*	↑*	-	-	-	-	-

Tabulka č. 4: Souborné znázornění změn glykemické křivky u SHR zvířat

věk (měsíce)	Samci SHR – Skupina 3					Samice SHR – Skupina 4				
	CoI v porovnání s CoII skupinou					CoI v porovnání s CoII skupinou				
čas	0.	30.	60.	120.	180.	0.	30.	60.	120.	180.
1. pásmo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2. pásmo	↓	↑	↑**	↑***	↑	↓*	↓	↑	↑*	↑
3. pásmo	↑	↑*	↑*	↑	↑	↓	↑	↑**	↑***	↑*
						↑	↑	↑*	↑**	↑
						↓	↑*	↑**	↑**	↑
4. pásmo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5. pásmo	-	-	-	-	-	↑	↑	↑**	↑*	↓

Tabulka č. 5: Souborné znázornění změn basální glykémie a sumy AUC u NR zv.

věk (měsíce)	Samci NR – Skupina 1		Samice NR – Skupina 2	
	CoI v porovnání s CoII skupinou		CoI v porovnání s CoII skupinou	
	Statisticky významná změna basální glykémie	Statisticky významná změna sumy AUC	Statisticky významná změna basální glykémie	Statisticky významná změna sumy AUC
4	-	-	-	↑⊕
4,5	-	-	⊕	-
5	∅	-	-	-
6	-	↑⊕	∅	↑⊕
7	⊕	↑⊕	-	-
8	-	-	⊕	↑⊕
9	∅	↑⊕	-	-
10	-	-	-	-

Tabulka č. 6: Souborné znázornění změn basální glykémie a sumy AUC u SHR zv.

věk (měsíce)	Samci SHR – Skupina 3		Samice SHR – Skupina 4	
	CoI v porovnání s CoII skupinou		CoI v porovnání s CoII skupinou	
	Statisticky významná změna basální glykémie	Statisticky významná změna sumy AUC	Statisticky významná změna basální glykémie	Statisticky významná změna sumy AUC
4	-	-	-	-
4,5	-	-	-	-
5	∅	↑⊕	-	-
6	-	-	⊕	↑⊕
6,5	-	-	∅	↑⊕
7	∅	↑⊕	∅	↑⊕
8	-	-	∅	↑⊕
9	-	-	-	-
10	-	-	-	-
10,5	-	-	∅	-
11	-	-	-	↑⊕

4.3.1.2. Vliv terguridu na hladinu krevní glukosy u zvířat kmene Wistar

V této části práce uvádíme výsledky šetření, kde jsme zjišťovali zda-li tergurid ovlivňuje intoleranci glycidů u normotenzivních samců a samic kmene Wistar způsobenou oligemickou hypoxií mozku.

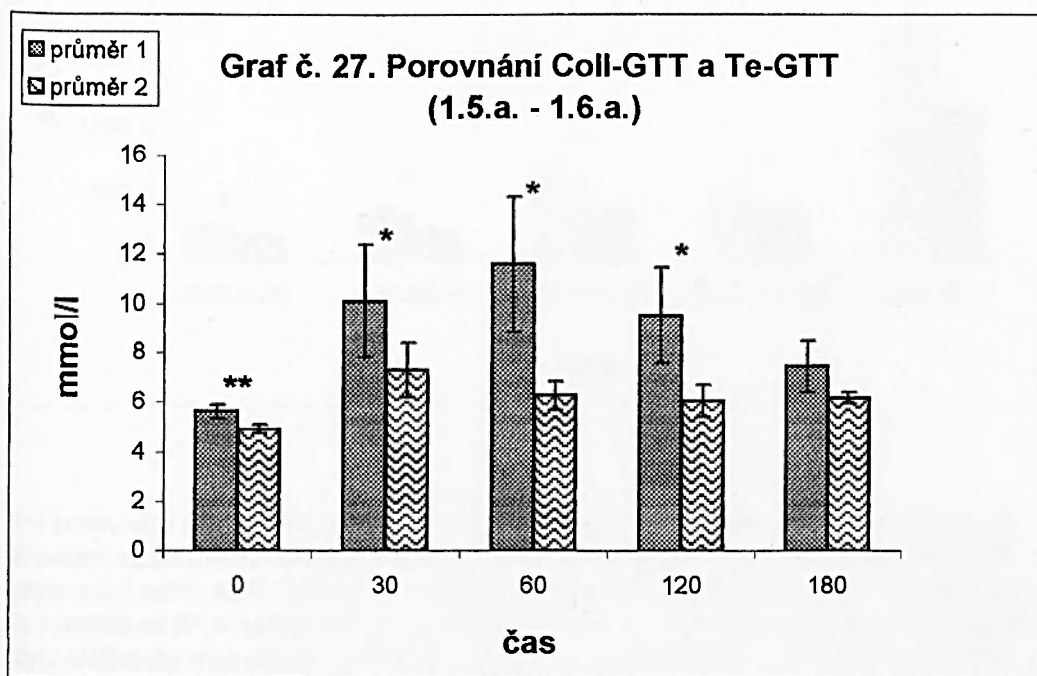
SKUPINA 1 - samci NR

Třetí pásmo:

Porovnání Coll-GTT a Te-GTT (1.5.a. - 1.6.a.), (n=4/5)

	0	30	60	120	180
průměr 1	5,63	10,10	11,60	9,53	7,45
průdch	0,23	1,95	2,25	1,68	0,85
smodch	0,26	2,27	2,71	1,94	1,07

	0	30	60	120	180
průměr 2	4,92	7,30	6,28	6,06	6,16
průdch	0,14	0,88	0,42	0,47	0,15
smodch	0,18	1,12	0,58	0,64	0,22

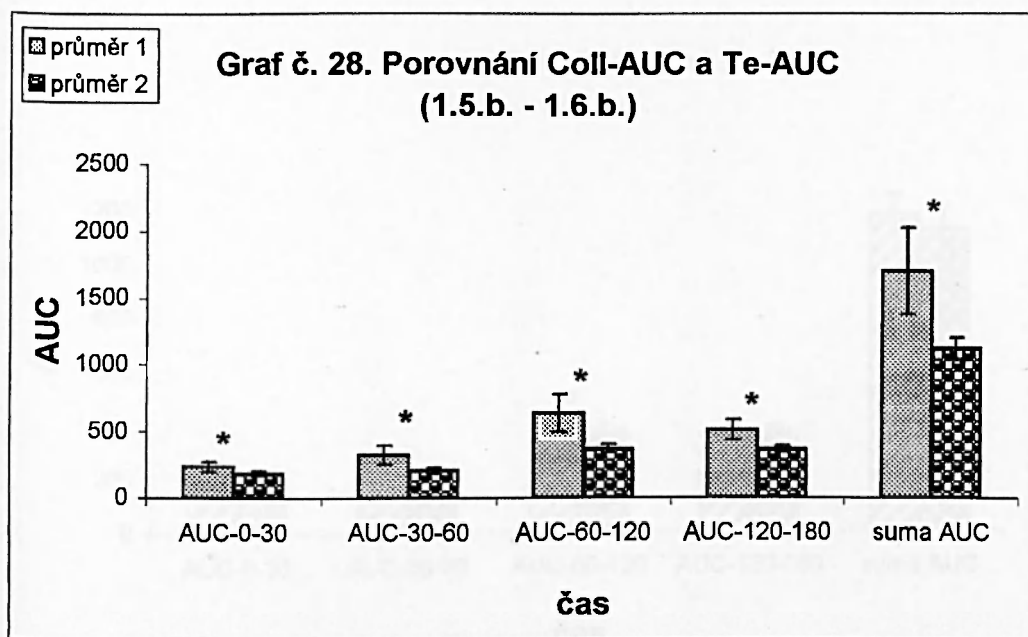


Při porovnání zvířat kontrolní skupiny zvířat se zvířaty s aplikovaným terguridem jsme našli statisticky významný rozdíl v čase stanovení basální glykémie (*P je menší než 0,01*), ve 30.minutě odběru (*P je menší než 0,05*), v 60.minutě odběru (*P je menší než 0,05*) a ve 120.minutě odběru (*P je menší než 0,05*). V těchto časech odběrů byla hladina glykémie statisticky významně vyšší u zvířat bez aplikovaného terguridu.

Porovnání Colf-AUC a Te-AUC (1.5.b. - 1.6.b.)

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 1	235,88	325,50	633,75	509,25	1704,38
průodch	32,63	63,00	117,75	59,25	272,63
smodch	37,86	73,17	138,59	76,34	321,52

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 2	183,30	203,70	370,20	366,60	1123,80
průodch	14,16	14,04	26,64	17,52	65,76
smodch	17,67	20,22	31,29	22,98	81,45

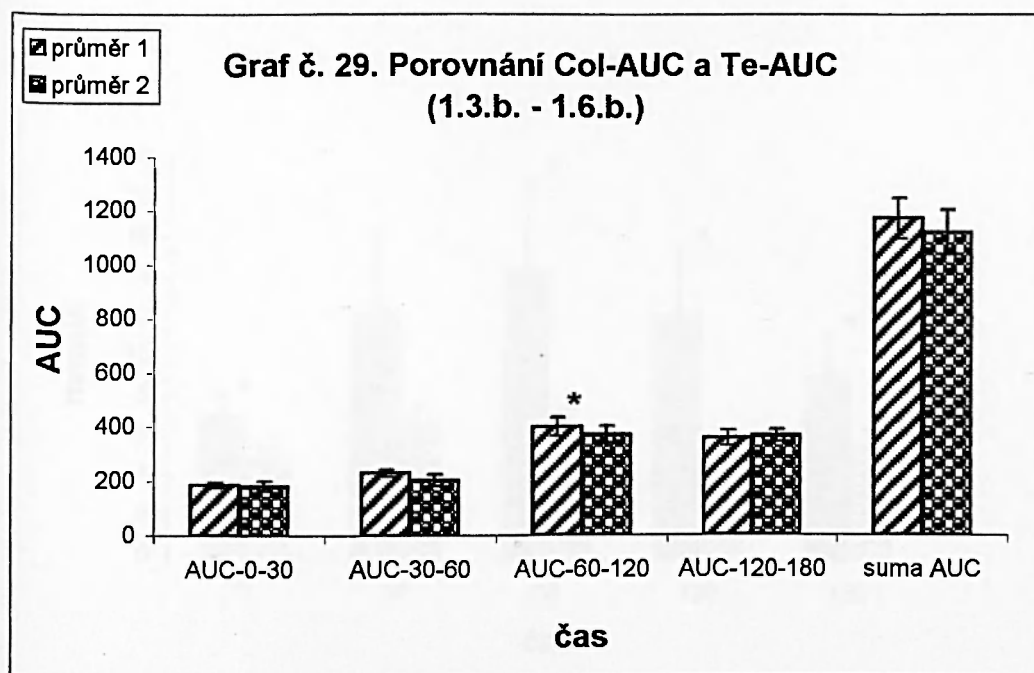


Při porovnání plochy pod křivkou u výše zmíněných zvířat jsme našli statisticky významný rozdíl mezi hodnotami AUC ve všech intervalech (*P je menší než 0,05*). Při porovnání sumy AUC Col a Coli skupiny jsme našli statisticky významný rozdíl mezi hodnotami (*P je menší než 0,05*). Zjištěné údaje u zvířat bez aplikovaného terguridu byly statisticky významně vyšší než u zvířat s terguridovou terapií. Suma AUC Coli skupiny byla o 34% větší než suma AUC Te skupiny.

Porovnání Col-AUC a Te-AUC (1.3.b. - 1.6.b.), (n=6/5)

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 1	186,75	231,00	399,00	357,50	1174,25
průdch	7,25	10,50	25,00	19,50	58,75
smodch	9,71	13,38	34,05	28,36	74,91

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 2	183,30	203,70	370,20	366,60	1123,80
průdch	14,16	14,04	26,64	17,52	65,76
smodch	17,67	20,22	31,29	22,98	81,45



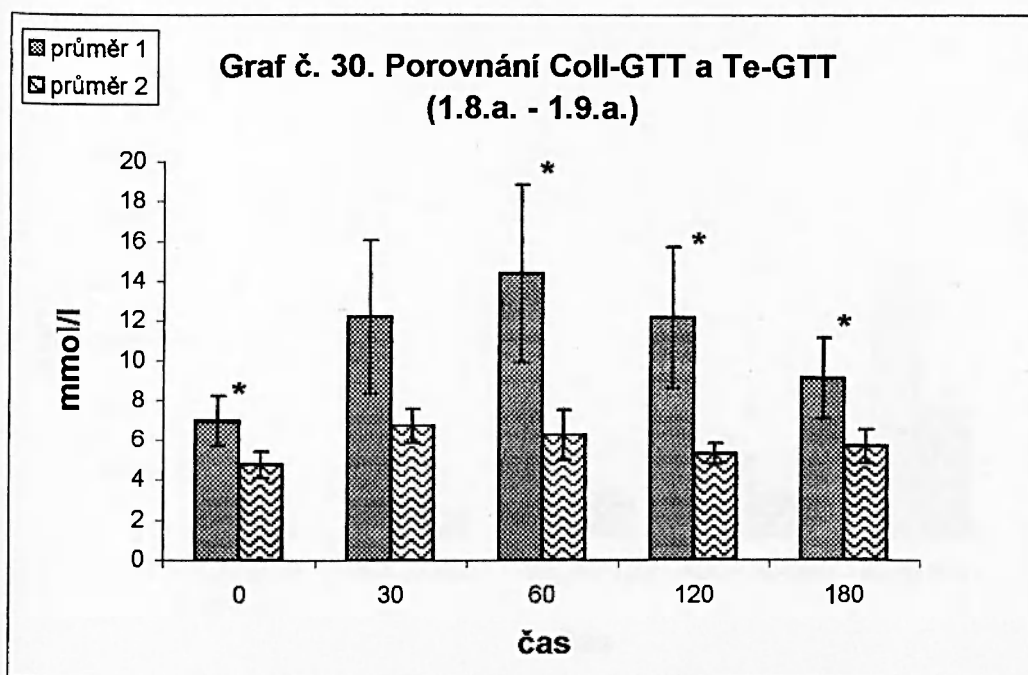
Zde jsme porovnávali plochu pod křivkou Col skupiny (zvířata bez navození oligemické hypoxie mozku, kde byla stanovena pouze glykemická křivka) s Te skupinou (zvířata podrobená oligemické hypoxii mozku a farmakologicky ovlivněná terguridem). Statisticky významný rozdíl mezi hodnotami jsme našli pouze v rozmezí mezi 60.-120. minutou (*P je menší než 0,05*). Při porovnání sumy AUC obou skupin jsme nenašli statisticky významný rozdíl. Suma AUC Col skupiny byla o 4% vyšší než suma AUC u Te skupiny.

Čtvrté pásmo:

Porovnání Coll-GTT a Te-GTT (1.8.a. - 1.9.a.), (n=4/3)

	0	30	60	120	180
průměr 1	7,00	12,20	14,35	12,15	9,15
průodch	0,95	3,15	3,03	2,58	1,55
smodch	1,24	3,84	4,45	3,55	2,03

	0	30	60	120	180
průměr 2	4,80	6,73	6,27	5,33	5,73
průodch	0,47	0,58	0,89	0,36	0,64
smodch	0,66	0,85	1,26	0,50	0,84

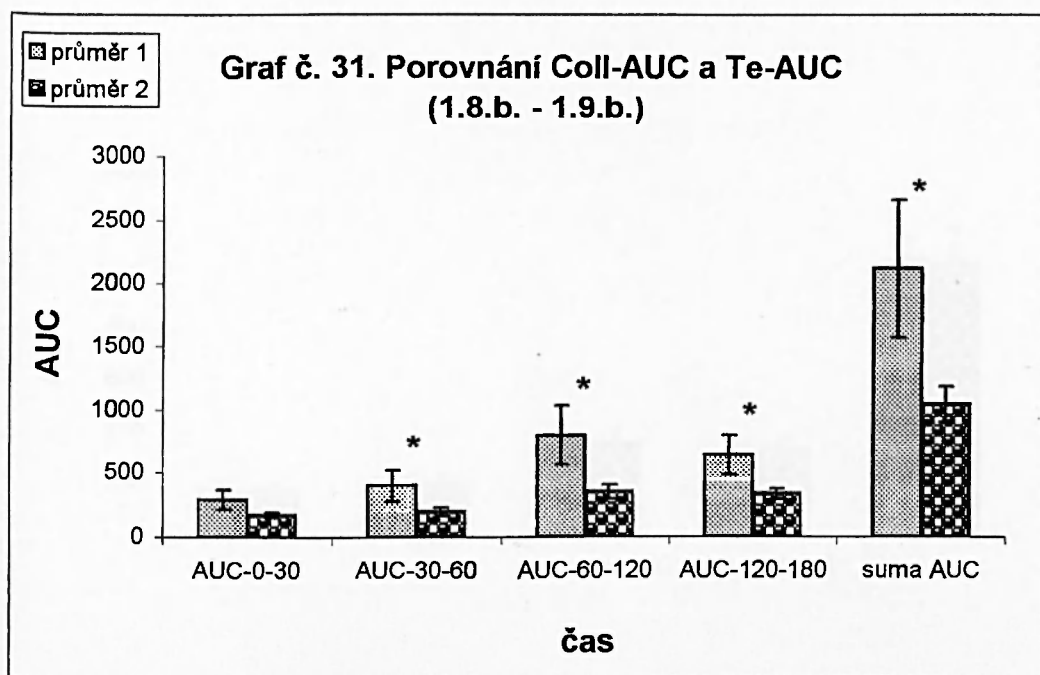


Po porovnání hladin glykémie mezi Coli skupinou a skupinou s aplikovaným terguridem jsme našli statisticky významně vyšší hodnoty glykémie u Coll skupiny v těchto časech odběru krve: v 60.minutě (*P je menší než 0,05*), ve 120.minutě (*P je menší než 0,05*), ve 180.minutě (*P je menší než 0,05*). Basální glykémie u zvířat bez terguridu byla taktéž statisticky významně vyšší (*P je menší než 0,05*) než u Te skupiny.

Porovnání Coll-AUC a Te-AUC (1.8.b. - 1.9.b.)

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 1	288,00	398,25	795,00	639,00	2120,25
průdch	61,50	85,50	168,00	109,50	399,38
smodch	75,96	120,15	233,91	158,18	546,45

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 2	173,00	195,00	348,00	332,00	1048,00
průdch	14,67	22,00	36,00	28,67	101,33
smodch	19,05	31,61	52,56	37,99	139,12

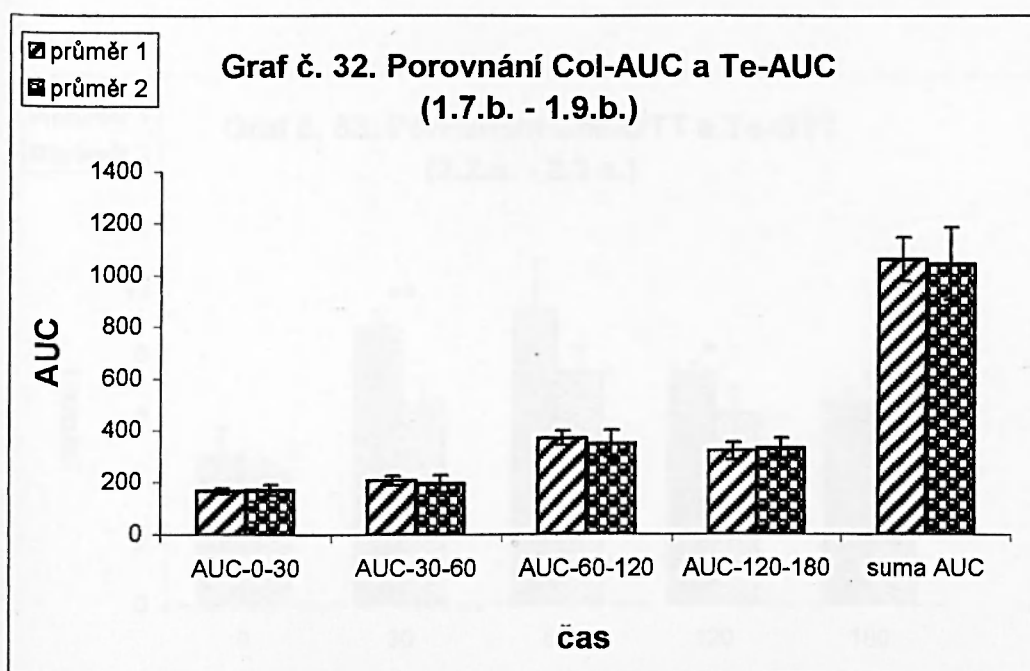


Při porovnání plochy pod křivkou u těchto skupin zvířat jsme našli statisticky významný rozdíl mezi hodnotami mezi 30.- 60.minutou, 60.-120.minutou a 120.-180.minutou (P je menší než 0,05). Při porovnání sumy AUC těchto skupin jsme zjistili statisticky významně vyšší hodnotu u Coll zvířat (P je menší než 0,05). Suma AUC u Coll skupiny byla o 51% vyšší než suma AUC u Te skupiny.

Porovnání Col-AUC a Te-AUC (1.7.b. - 1.9.b.), (n=7/3)

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 1	168,00	207,43	368,57	320,14	1064,14
průdch	8,57	13,35	24,37	25,59	66,31
smodch	10,71	18,20	28,32	33,03	84,82

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 2	173,00	195,00	348,00	332,00	1048,00
průdch	14,67	22,00	36,00	28,67	101,33
smodch	19,05	31,61	52,56	37,99	139,12



Porovnali jsme Col skupinu (zvířata bez navozené oligemické hypoxie mozku, u kterých byla pouze provedena glykemická křivka) a Te skupinou (zvířata podrobená oligemické hypoxii mozku s farmakologickým ovlivněním terguridem). Zjistili jsme, že mezi AUC Col skupiny a AUC Te skupiny nebyl nalezen statisticky významný rozdíl, ani při porovnání sumy AUC jsme rozdílné hodnoty nenalezli. Hodnoty nalezené u Te skupiny jsou téměř totožné s hodnotami u intaktních zvířat. Přičemž suma AUC Col ve srovnání se sumou AUC Te skupiny je pouze o 1,5% vyšší.

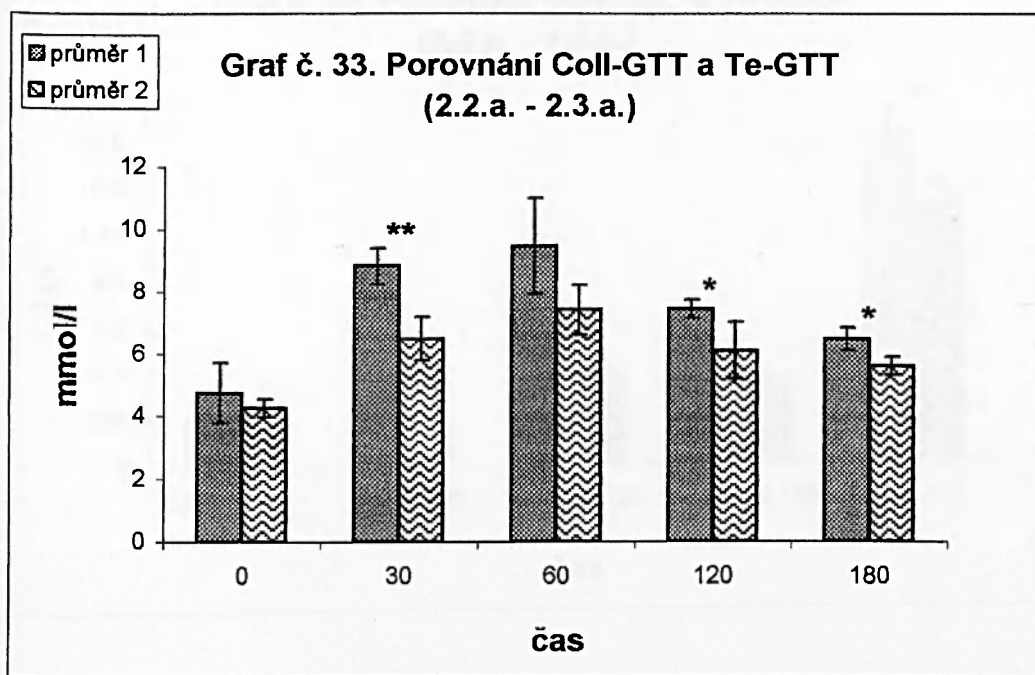
SKUPINA 2 - samice NR

První pásmo:

Porovnání Coll-GTT a Te-GTT (2.2.a. - 2.3.a.), (n=4/4)

	0	30	60	120	180
průměr 1	4,75	8,83	9,45	7,43	6,48
průdch	0,73	0,39	1,13	0,21	0,24
smodch	0,97	0,58	1,54	0,30	0,37

	0	30	60	120	180
průměr 2	4,28	6,48	7,40	6,10	5,63
průdch	0,23	0,58	0,65	0,60	0,19
smodch	0,29	0,69	0,79	0,91	0,29

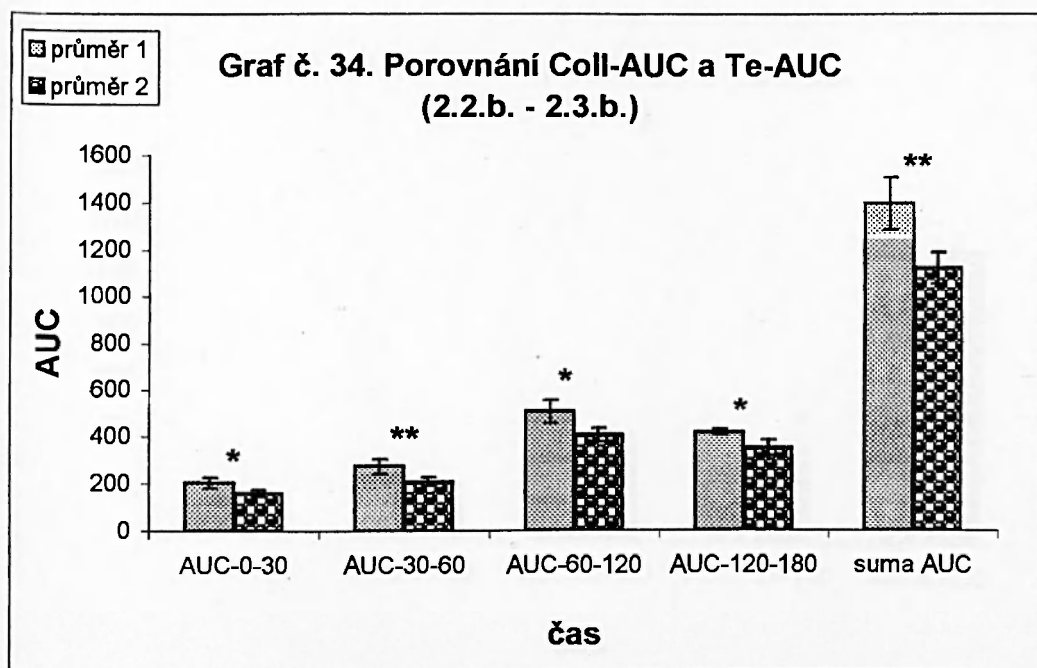


Po porovnání hodnot glykémie jsme našli statisticky významný rozdíl mezi hodnotami ve 30.minutě (*P je menší než 0,01*), ve 120.minutě (*P je menší než 0,05*) a ve 180.minutě odběru (*P je menší než 0,05*). Hodnoty glykémie u Coll skupiny byly v těchto fázích odběru statisticky významně vyšší než u zvířat s terguridem.

Porovnání Coll-AUC a Te-AUC (2.2.b. - 2.3.b.)

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 1	203,63	274,13	506,25	417,00	1401,00
průdch	16,69	22,69	37,88	12,00	81,75
smodch	22,46	30,31	50,76	14,07	110,38

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 2	161,25	208,13	405,00	351,75	1126,13
průdch	9,75	12,19	21,00	23,63	49,88
smodch	12,82	17,16	28,46	33,44	67,35

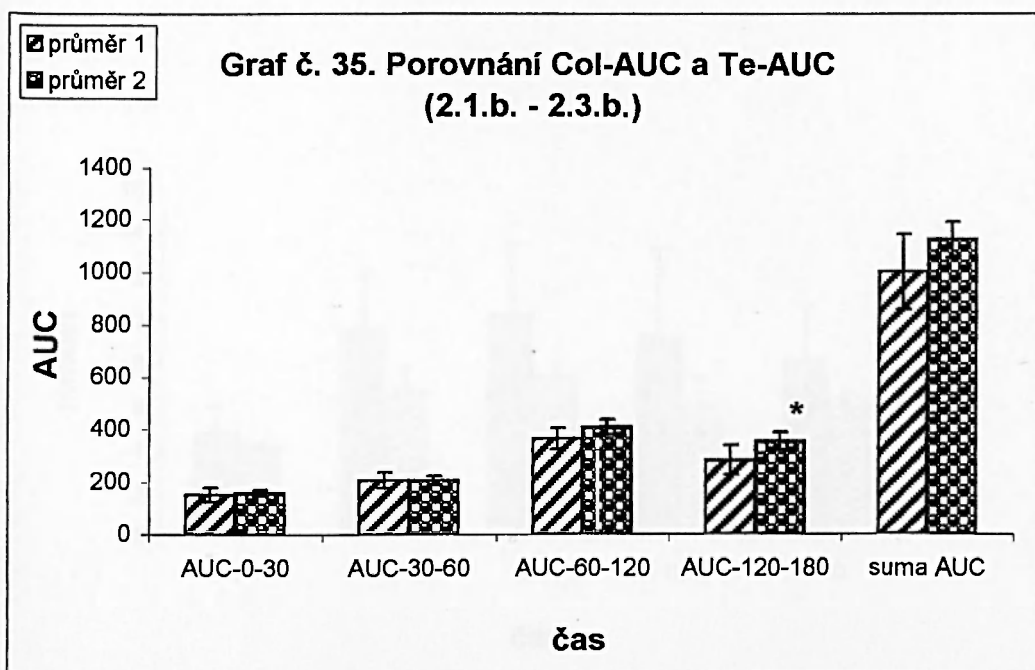


U stejných zvířat, viz předchozí strana, jsme porovnali také plochu pod křivkou. Statisticky významné rozdíly mezi hodnotami jsme našli ve všech intervalech: mezi 0.-30.minutou (*P je menší než 0,05*), mezi 30.-60.minutou (*P je menší než 0,01*), mezi 60.-120.minutou (*P je menší než 0,05*) a mezi 120.-180.minutou (*P je menší než 0,05*). Při porovnání sumy AUC jsme našli u Coll skupiny statisticky významně vyšší hodnotu (*P je menší než 0,01*), než u zvířat s aplikovaným terguridem. Suma AUC Coli skupiny byla o 20% vyšší než suma AUC Te skupiny.

Porovnání Col-AUC a Te-AUC (2.1.b. - 2.3.b.), (n=8/4)

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 1	153,00	207,56	361,50	281,63	1003,69
průodch	19,88	23,06	30,00	37,03	102,23
smodch	27,06	30,44	39,90	55,58	143,75

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 2	161,25	208,13	405,00	351,75	1126,13
průodch	9,75	12,19	21,00	23,63	49,88
smodch	12,82	17,16	28,46	33,44	67,35



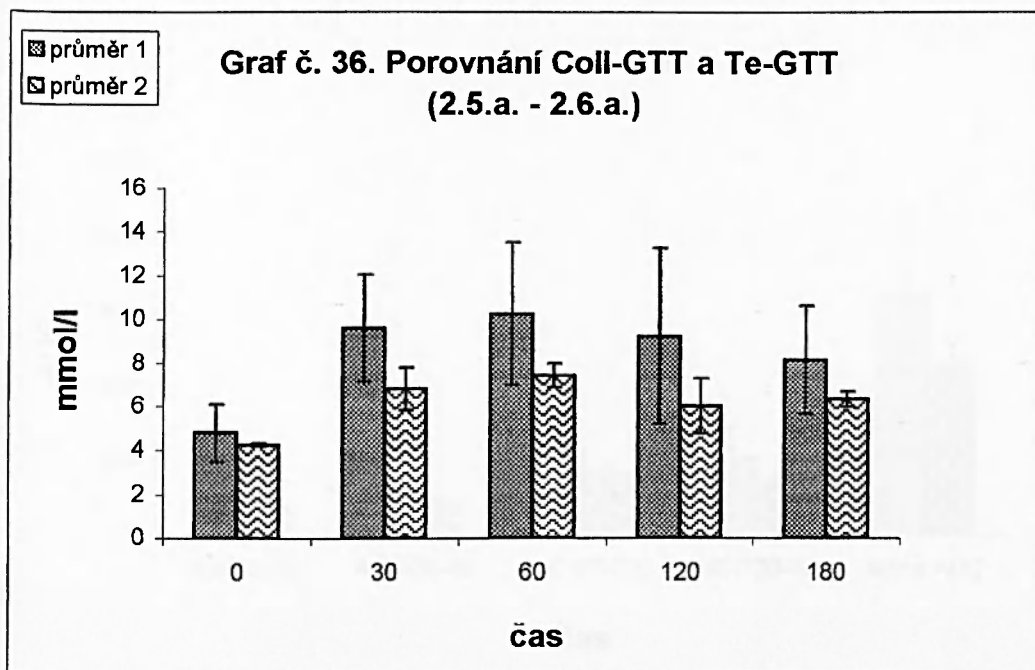
Zde jsme porovnali zvířata Te skupiny (zvířata podrobená oligemické hypoxii mozku ovlivněná farmakologicky terguridem) se zvířaty Col skupiny (zvířata bez oligemické hypoxie mozku, u kterých byla pouze provedena glykemická křivka). Statisticky významný rozdíl mezi hodnotami AUC byl nalezen pouze mezi 120.-180.minutou (*P je menší než 0,05*). Při porovnání sumy AUC obou skupin jsme statisticky významný rozdíl mezi hodnotami nenalezli. Suma AUC Te skupiny byla o 11% vyšší než suma AUC Col skupiny.

Druhé pásmo:

Porovnání Coll-GTT a Te-GTT (2.5.a. - 2.6.a.), (n=12/2)

	0	30	60	120	180
průměr 1	4,78	9,59	10,22	9,21	8,17
průdch	1,01	1,89	2,37	3,05	2,06
smodch	1,30	2,44	3,27	4,03	2,49

	0	30	60	120	180
průměr 2	4,25	6,80	7,40	6,00	6,35
průdch	0,05	0,70	0,40	0,90	0,25
smodch	0,07	0,99	0,57	1,27	0,35

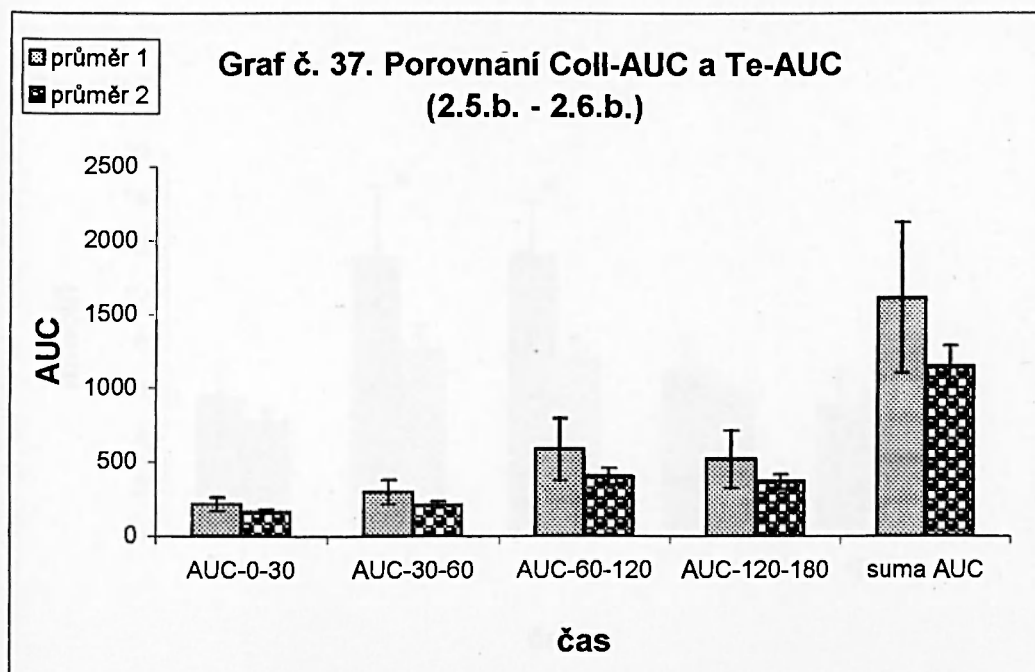


Při porovnání glykemické křivky Coli skupiny a Te skupiny jsme nenalezli statisticky významný rozdíl mezi porovnávanými hodnotami. Grafické znázornění významný rozdíl sice ukazuje, ale dvě přeživší zvířata ze skupiny nezajišťují vhodný vzorek.

Porovnání Coll-AUC a Te-AUC (2.5.b. - 2.6.b.)

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 1	215,63	297,13	582,75	521,25	1616,75
průdch	36,81	63,42	160,50	151,00	403,17
smodch	47,57	81,94	209,83	192,97	510,92

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 2	165,75	213,00	402,00	370,50	1151,25
průdch	11,25	16,50	39,00	34,50	101,25
smodch	15,91	23,33	55,15	48,79	143,19



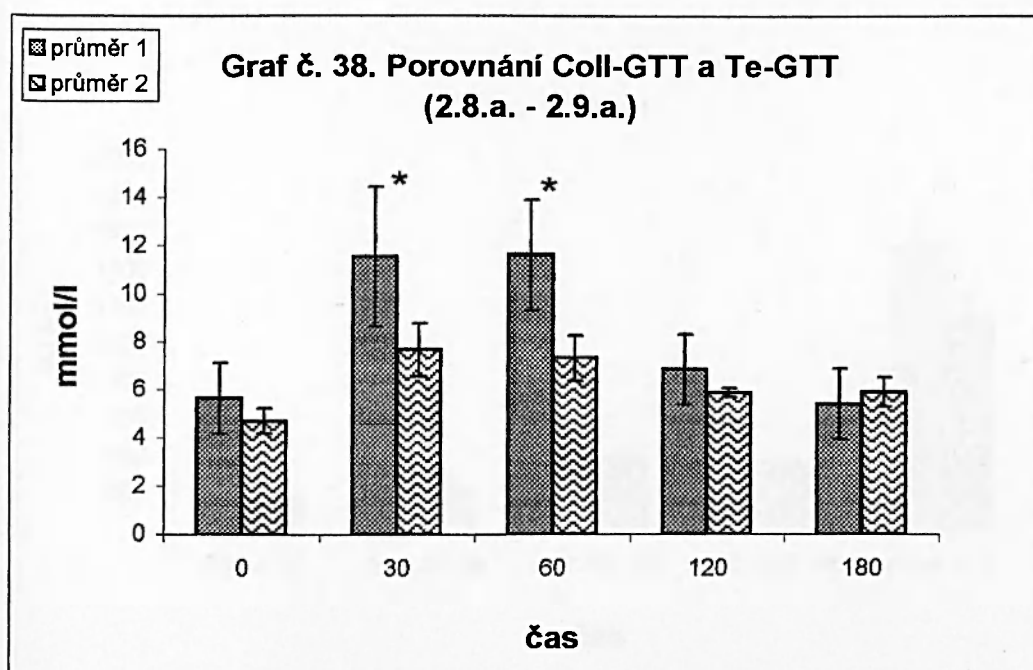
Ani porovnání plochy pod křivkou těchto zvířat neukázalo statisticky významný rozdíl mezi hodnotami sledovaných intervalů. Také při porovnání sumy AUC Coli skupiny s Te skupinou jsme nenašli statisticky významný rozdíl. Suma AUC Coli skupiny byla o 29% vyšší než suma AUC Te skupiny. Při porovnání sumy AUC Col a Te skupiny (2.4.b. a 2.6.b.) byla hodnota sumy AUC Col skupiny o 4% vyšší než suma AUC Te skupiny, nikoliv však statisticky významně (nezobrazeno graficky).

Třetí pásmo:

Porovnání Coll-GTT a Te-GTT (2.8.a. - 2.9.a.), (n=6/4)

	0	30	60	120	180
průměr 1	5,65	11,52	11,58	6,83	5,42
průdch	1,10	2,29	1,95	1,24	1,05
smodch	1,47	2,91	2,30	1,46	1,47

	0	30	60	120	180
průměr 2	4,70	7,65	7,30	5,88	5,93
průdch	0,35	0,95	0,80	0,14	0,43
smodch	0,54	1,10	0,94	0,19	0,62

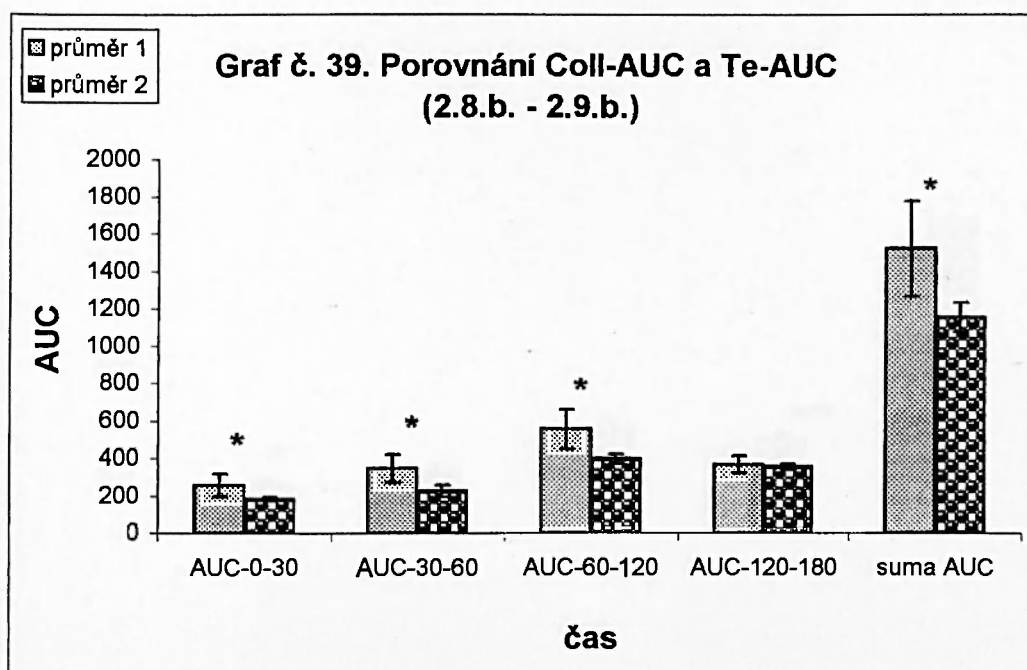


Při porovnání glykemické křivky Coli skupiny a Te skupiny jsme našli statisticky významný rozdíl ve 30.minutě odběru (*P je menší než 0,05*) a v 60.minutě odběru (*P je menší než 0,05*). Hodnoty nalezené u Coll skupiny v těchto časech odběru byly statisticky významně vyšší než hodnoty zvířat Te skupiny.

Porovnání Coll-AUC a Te-AUC (2.8.b. - 2.9.b.)

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 1	257,50	346,50	552,50	367,50	1524,00
průdch	45,33	59,00	85,50	38,50	218,00
smodch	60,43	74,77	104,17	47,54	252,26

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 2	185,25	224,25	395,25	354,00	1158,75
průdch	9,00	26,25	21,75	10,50	67,50
smodch	10,99	30,56	25,85	15,30	78,06

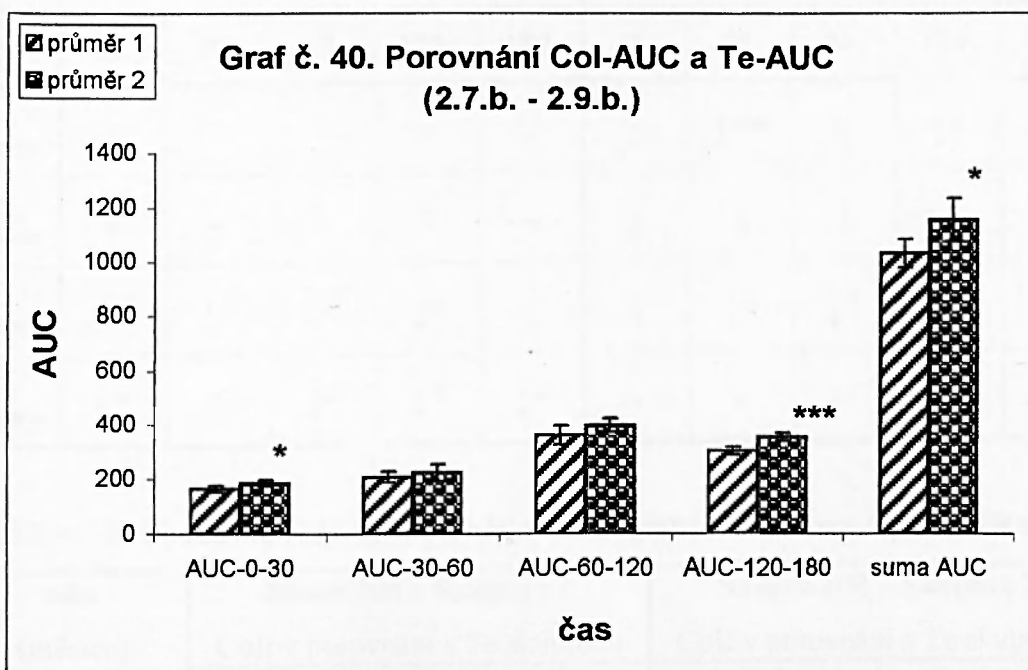


Porovnáním AUC těchto dvou skupin jsme našli statisticky významný rozdíl v těchto intervalech: mezi 0.-30.minutou (*P je menší než 0,05*), mezi 30.-60.minutou (*P je menší než 0,05*), mezi 60:-120.minutou (*P je menší než 0,05*). U Coll skupiny byly hodnoty v těchto intervalech vyšší než hodnoty u Te skupiny. Při porovnání sumy AUC jsme našli u Coll skupiny statisticky významně vyšší hodnotu AUC (*P je menší než 0,05*), než u Te skupiny. Suma AUC Coli skupiny byla o 24% větší než suma AUC Te skupiny.

Porovnání Col-AUC a Te-AUC (2.7.b. - 2.9.b.), (n=7/4)

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 1	164,36	207,21	360,00	303,43	1035,00
průdch	9,73	16,10	29,14	11,51	47,14
smodch	12,69	19,83	35,67	14,74	53,55

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 2	185,25	224,25	395,25	354,00	1158,75
průdch	9,00	26,25	21,75	10,50	67,50
smodch	10,99	30,56	25,85	15,30	78,06



Zde jsme porovnali zvířata Col skupiny (zvířata bez oligemické hypoxie mozku, u kterých byla stanovena pouze glykemická křivka) se zvířaty Te skupiny (zvířata podrobená oligemické hypoxii mozku ovlivněná farmakologicky terguridem). Nalezli jsme statisticky významný rozdíl mezi AUC v intervalu 0.-30. minuta (*P je menší než 0,05*) a v intervalu 120.-180.minuta (*P je menší než 0,001*), kdy AUC Te skupiny bylo vyšší než u Col skupiny. Při porovnání sumy AUC obou skupin jsme našli statisticky významně vyšší hodnotu u Te skupiny (*P je menší než 0,05*), která byla o 11% vyšší oproti Col skupině.

Souborné přehledy výsledků vlivu terguridu na hladinu krevní glukosy u zvířat kmene Wistar

Symbole použité v přehledech

* = $P < 0,05$

- v tomto pásmu nebyly experimenty provedeny

** = $P < 0,01$

↑ = hodnota je vyšší (při porovnání CoII versus Te, pak u Te)

*** = $P < 0,001$

↓ = hodnota je nižší (při porovnání CoII versus Te, pak u Te)

⊕ = statisticky významná změna nastala

∅ = statisticky významná změna nenastala

Tabulka č. 7: Souborné znázornění změn glykemické křivky u NR zvířat

věk (měsíce)	Samci NR – Skupina 1					Samice NR – Skupina 2				
	CoII v porovnání s Te skupinou					CoII v porovnání s Te skupinou				
čas	0.	30.	60.	120.	180.	0.	30.	60.	120.	180.
1. pásmo	-	-	-	-	-	↓	↓**	↓	↓*	↓*
2. pásmo	-	-	-	-	-	↓	↓	↓	↓	↓
3. pásmo	↓**	↓*	↓*	↓*	↓	↓	↓*	↓*	↓	↑
4. pásmo	↓*	↓	↓*	↓*	↓*	-	-	-	-	-

Tabulka č. 8: Souborné znázornění změn basální glykémie a sumy AUC u NR zv.

věk (měsíce)	Samci NR – Skupina 1		Samice NR – Skupina 2	
	CoII v porovnání s Te skupinou		CoII v porovnání s Te skupinou	
	Statisticky významná změna basální glykémie	Statisticky významná změna sumy AUC	Statisticky významná změna basální glykémie	Statisticky významná změna sumy AUC
4	-	-	∅	↓⊕
4,5	-	-	-	-
5	-	-	-	-
6	-	-	∅	↓∅
7	-	-	-	-
8	⊕	↓⊕	∅	↓⊕
9	⊕	↓⊕	-	-
10	-	-	-	-

4.3.1.3. Vliv terguridu na hladinu krevní glukosy u kmene Koletského typu

V této kapitole uvádíme výsledky experimentů, ve kterých jsme zjišťovali, zda-li tergurid ovlivňuje intoleranci glycidů navozenou oligemickou hypoxií mozku u samců a samic Koletského typu.

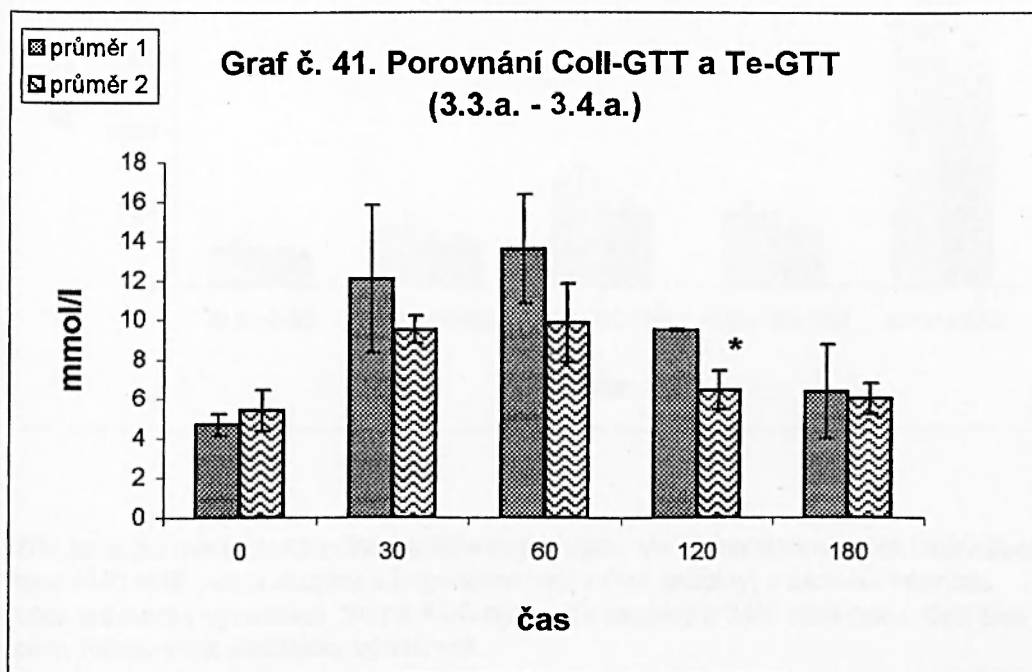
SKUPINA 3 - samci SHR

Druhé pásmo:

Porovnání Coll-GTT a Te-GTT (3.3.a. - 3.4.a), (n=2/3)

	0	30	60	120	180
průměr 1	4,70	12,15	13,65	9,55	6,40
průodch	0,40	2,65	1,95	0,05	1,70
smodch	0,57	3,75	2,76	0,07	2,40

	0	30	60	120	180
průměr 2	5,45	9,60	9,90	6,50	6,05
průodch	0,75	0,50	1,40	0,70	0,55
smodch	1,06	0,71	1,98	0,99	0,78

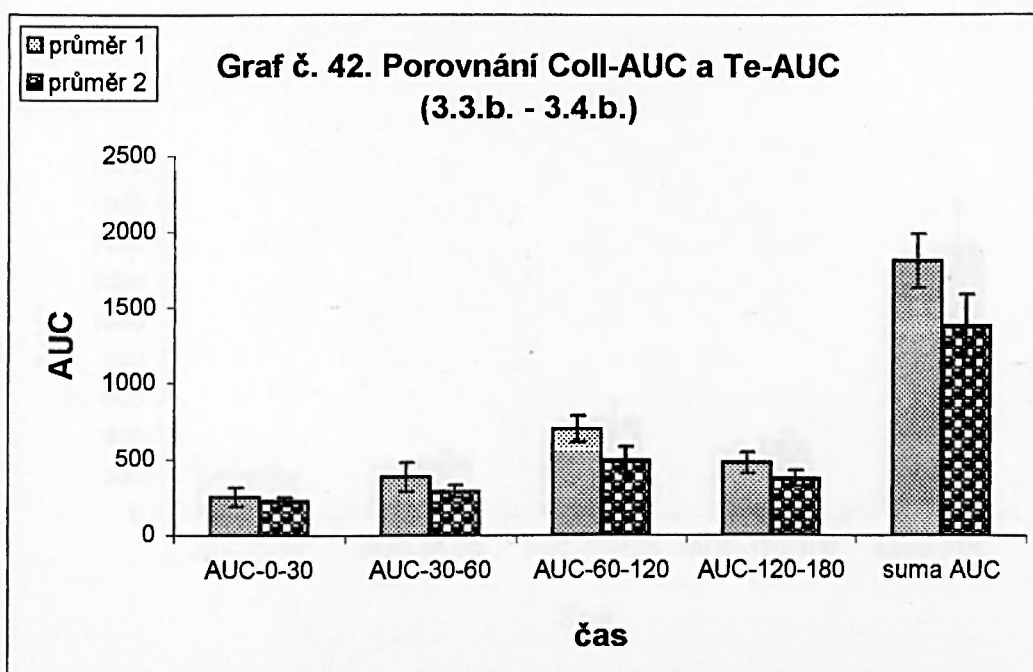


Po porovnání těchto dvou skupin jsme našli nižší hodnotu glykémie v jednotlivých časech odběru u Te skupiny, ale pouze ve 120. minutě byl tento rozdíl statisticky významný (P je menší než 0,05). Basální glykémie byla u zvířat s terguridem vyšší než u zvířat Coli skupiny, nikoliv však statisticky významně.

Porovnání Coll-AUC a Te-AUC (3.3.b. - 3.4.b.)

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 1	252,75	387,00	696,00	478,50	1814,25
průdch	45,75	69,00	60,00	49,50	125,25
smodch	64,70	97,58	84,85	70,00	177,13

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 2	225,75	292,50	492,00	376,50	1386,75
průdch	18,75	28,50	63,00	37,50	147,75
smodch	26,52	40,31	89,10	53,03	208,95

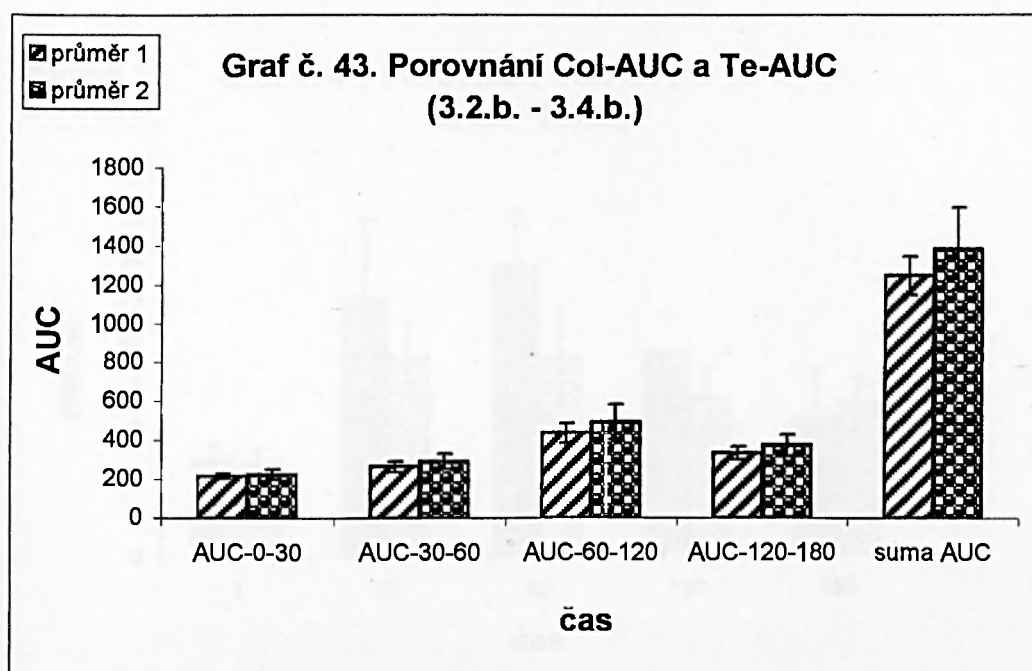


Zde jsme porovnali AUC zvířat popisovaných výše. Ve všech sledovaných intervalech byla AUC nižší než u skupiny s terguridem než u Coll skupiny, v žádném intervalu však statisticky významně. Suma AUC byla u Te skupiny o 24% nižší než u Coll skupiny, nikoliv však statisticky významně.

Porovnání Col-AUC a Te-AUC (3.2.b. - 3.4.b.), (n=1/3)

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 1	215,25	264,56	435,38	336,00	1251,19
průdch	9,75	19,59	40,22	24,00	79,69
smodch	13,10	28,74	49,72	32,75	97,47

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 2	225,75	292,50	492,00	376,50	1386,75
průdch	18,75	28,50	63,00	37,50	147,75
smodch	26,52	40,31	89,10	53,03	208,95

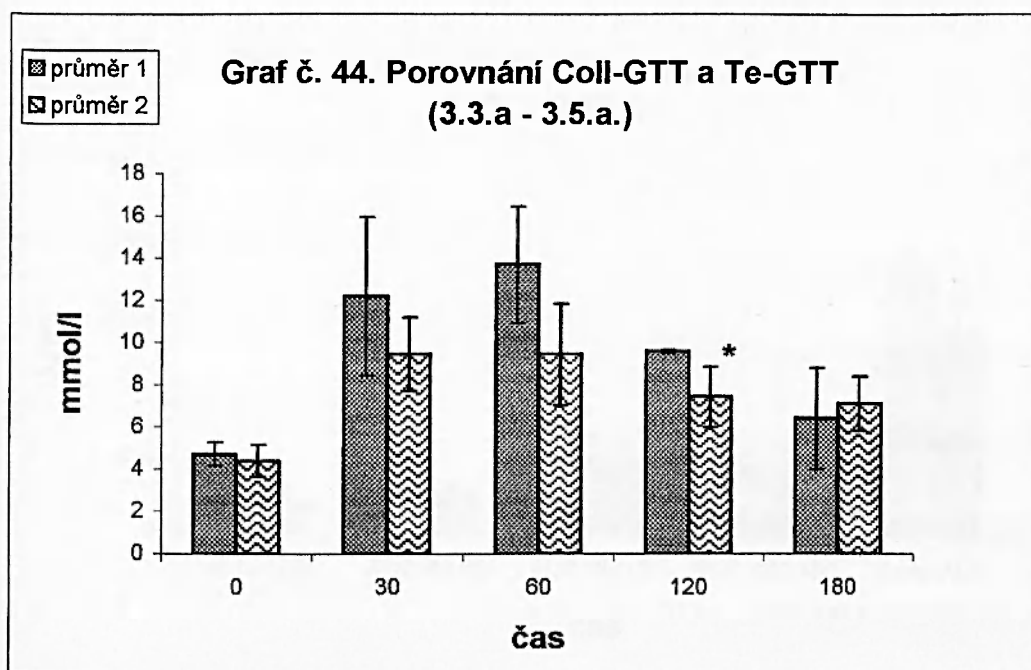


Při porovnání Col skupiny (zvířat bez oligemické hypoxie mozku, u kterých byla stanovena pouze glykemická křivka) a Te skupiny (zvířata u nichž byla navozena oligemická hypoxie mozku a která byla ovlivněna farmakologicky terguridem) jsme našli ne-
 nalezli statisticky významný rozdíl mezi sledovanými intervaly. Hodnoty obou skupin
 se příliš nelišily. Při porovnání sumy AUC těchto skupin jsme také ne-
 nalezli statisticky významný rozdíl. Suma AUC Te skupiny byla o 10% vyšší než suma AUC Col.

Porovnání Coll-GTT a Te-GTT (3.3.a. - 3.5.a.), (n=2/5)

	0	30	60	120	180
průměr 1	4,70	12,15	13,65	9,55	6,40
průdch	0,40	2,65	1,95	0,05	1,70
smodch	0,57	3,75	2,76	0,07	2,40

	0	30	60	120	180
průměr 2	4,38	9,42	9,40	7,40	7,10
průdch	0,62	1,14	1,96	1,08	1,00
smodch	0,75	1,73	2,41	1,43	1,30

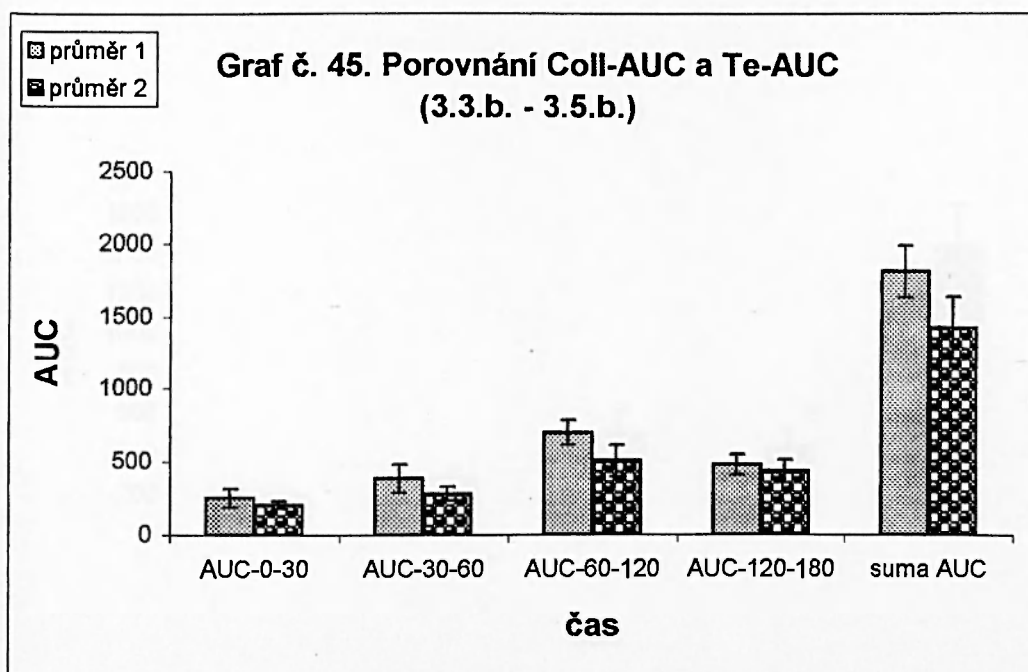


Po porovnání těchto dvou skupin jsme našli nižší hodnotu glykémie v jednotlivých časech odběru u Te skupiny, ale pouze ve 120. minutě byl tento rozdíl statisticky významný (P je menší než 0,05). Basální glykémie byla u zvířat s terguridem nižší než u zvířat Coli skupiny, nikoliv však statisticky významně.

Porovnání Coll-AUC a Te-AUC (3.3.b. - 3.5.b.)

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 1	252,75	387,00	696,00	478,50	1814,25
průdch	45,75	69,00	60,00	49,50	125,25
smodch	64,70	97,58	84,85	70,00	177,13

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 2	207,00	282,30	504,00	435,00	1428,30
průdch	20,40	33,24	91,20	61,20	170,04
smodch	27,15	46,37	107,83	80,25	215,32

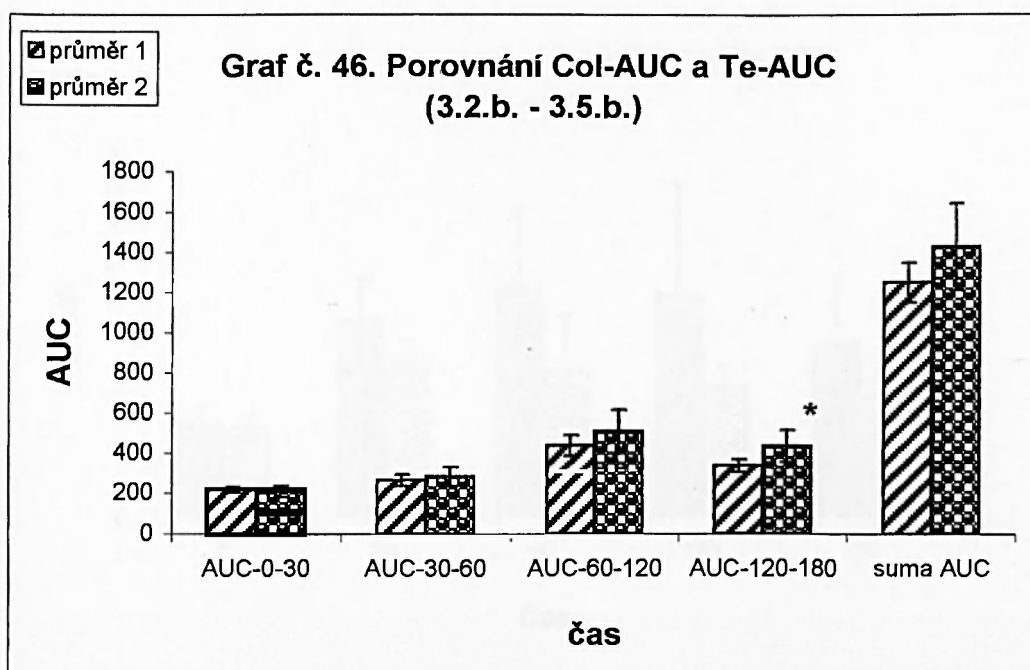


Zde jsme porovnali AUC zvířat popisovaných výše. Ve všech sledovaných intervalech byla AUC nižší u skupiny s terguridem než u Coll skupiny, v žádném intervalu však statisticky významně. Suma AUC byla u Te skupiny o 21% nižší než u Coll skupiny, nikoliv však statisticky významně.

Porovnání Col-AUC a Te-AUC (3.2.b. - 3.5.b.), (n=8/5)

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 1	215,25	264,56	435,38	336,00	1251,19
průdch	9,75	19,59	40,22	24,00	79,69
smodch	13,10	28,74	49,72	32,75	97,47

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 2	207,00	282,30	504,00	435,00	1428,30
průdch	20,40	33,24	91,20	61,20	170,04
smodch	27,15	46,37	107,83	80,25	215,32



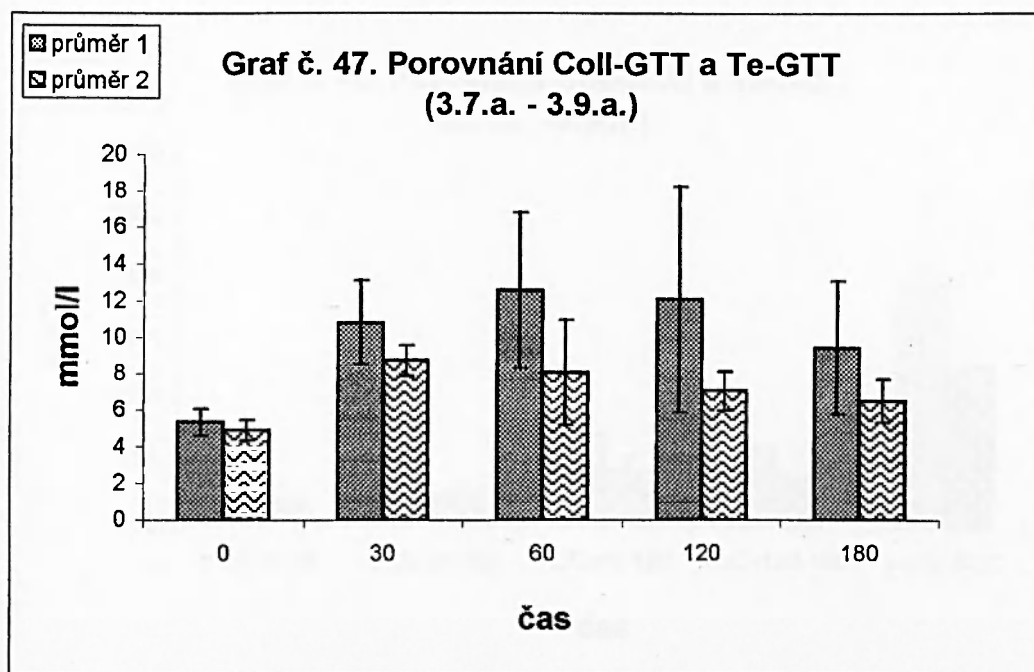
Při porovnání Col skupiny (zvířata bez oligemické hypoxie mozku, u kterých byla pouze stanovena glykemická křivka) a Te skupiny (zvířata podrobená oligemické hypoxii mozku a ovlivněná farmakologicky terguridem) jsme v intervalu mezi 120.-180. minutou našli statisticky významný rozdíl mezi hodnotami (*P je menší než 0,05*), kdy AUC Te skupiny byla statisticky významně vyšší než AUC Col skupiny. Při porovnání sumy AUC Col skupiny a Te skupiny jsme nenalezli statisticky významný rozdíl. Suma AUC Te skupiny byla o 12% vyšší než suma Col skupiny.

Třetí pásmo:

Porovnání Coll-GTT a Te-GTT (3.7.a. - 3.9.a.), (n=6/2)

	0	30	60	120	180
průměr 1	5,33	10,78	12,55	12,07	9,45
průdch	0,63	1,92	3,13	4,99	3,03
smodch	0,74	2,29	4,27	6,18	3,66

	0	30	60	120	180
průměr 2	4,90	8,70	8,05	7,05	6,55
průdch	0,40	0,60	2,05	0,75	0,85
smodch	0,57	0,85	2,90	1,06	1,20

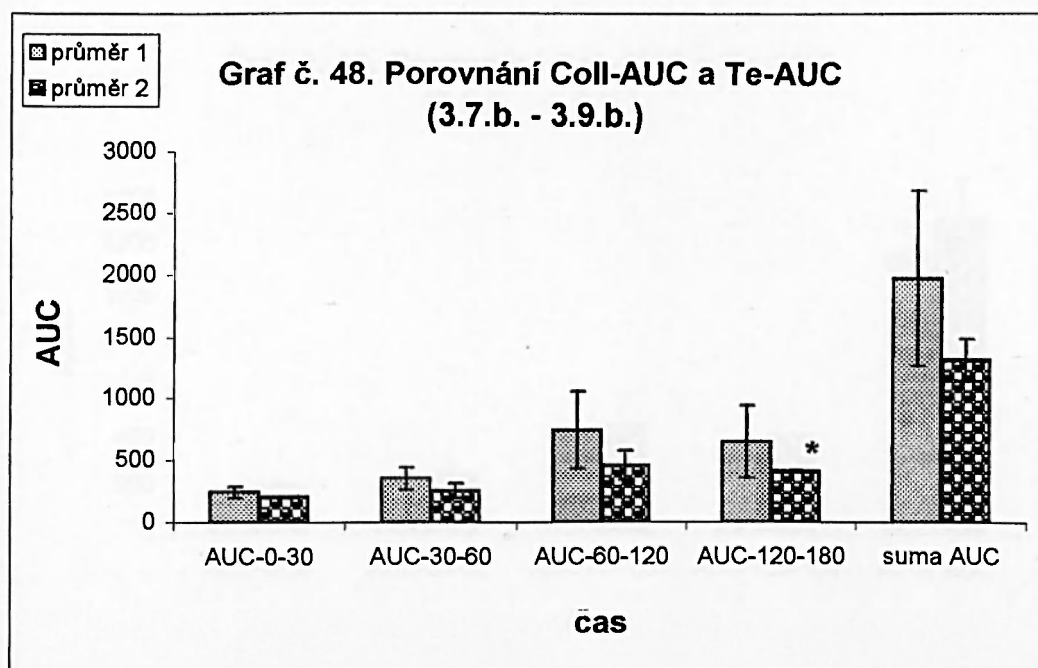


Při porovnání glykemické křivky Coll skupiny a Te skupiny jsme nenalezli statisticky významný rozdíl mezi jednotlivými hodnotami, přestože hodnoty glykémie byly u Te skupiny viditelně nižší než u Coll skupiny.

Porovnání Coll-AUC a Te-AUC (3.7.b. - 3.9.b.)

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 1	241,75	350,00	738,50	645,50	1975,75
průdch	34,25	73,50	237,67	240,67	553,83
smodch	43,61	90,56	309,42	294,68	712,50

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 2	204,00	251,25	453,00	408,00	1316,25
průdch	3,00	39,75	84,00	3,00	123,75
smodch	4,24	56,21	118,79	4,24	175,01

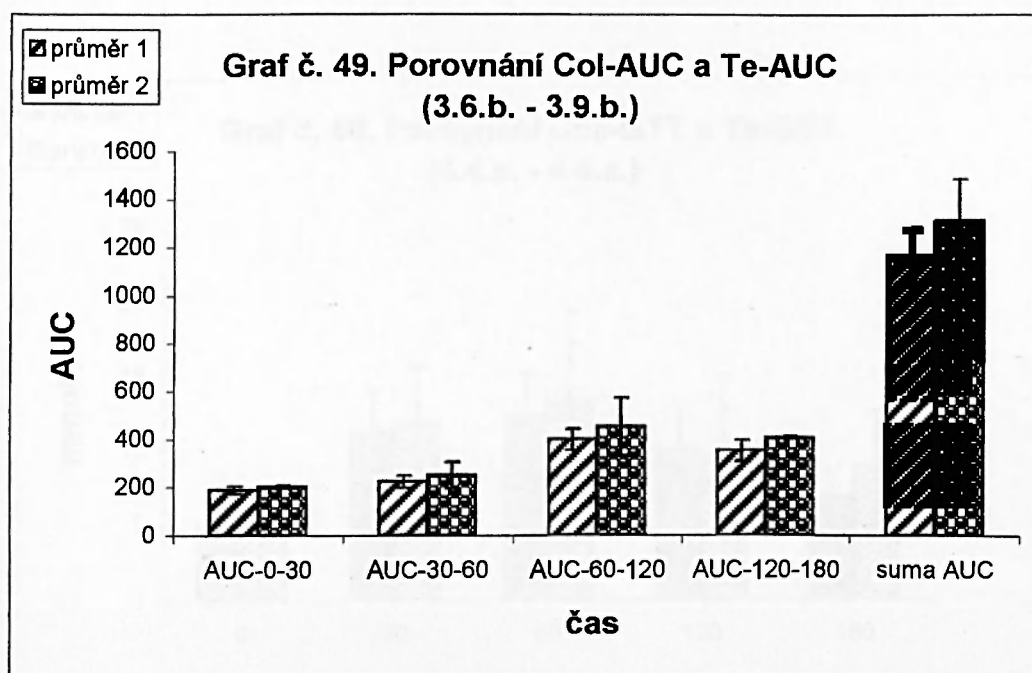


Při porovnání AUC výše zmíněných zvířat jsme našli statisticky významný rozdíl v intervalu mezi 120.-180.minutou (*P je menší než 0,05*), kdy hodnota AUC Te skupiny byla menší než hodnota AUC u Coll skupiny. V ostatních intervalech byly hodnoty AUC u Te skupiny rovněž menší než u Coll skupiny, rozdíl mezi nimi však nebyl statisticky významný. Suma AUC Te skupiny byla sice mnohem menší než u Coll skupiny (o 33%), ale nikoliv statisticky významně.

Porovnání Col-AUC a Te-AUC (3.6.b. - 3.9.b.), (n=11/2)

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 1	189,00	223,91	399,27	354,00	1166,18
průdch	13,64	20,36	34,12	33,27	94,17
smodch	16,64	25,30	44,24	44,56	113,91

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 2	204,00	251,25	453,00	408,00	1316,25
průdch	3,00	39,75	84,00	3,00	123,75
smodch	4,24	56,21	118,79	4,24	175,01



Při porovnání Col skupiny (zvířata bez oligemické hypoxie mozku, u kterých byla pouze stanovena glykemická křivka) a Te skupiny (zvířata podrobená oligemické hypoxii mozku a ovlivněná farmakologicky terguridem) jsme nenalezli statisticky významný rozdíl mezi sledovanými hodnotami intervalů. Také při porovnání sumy AUC obou skupin jsme nenalezli statisticky významný rozdíl. Suma AUC Te skupiny byla o 11% větší než suma Col skupiny.

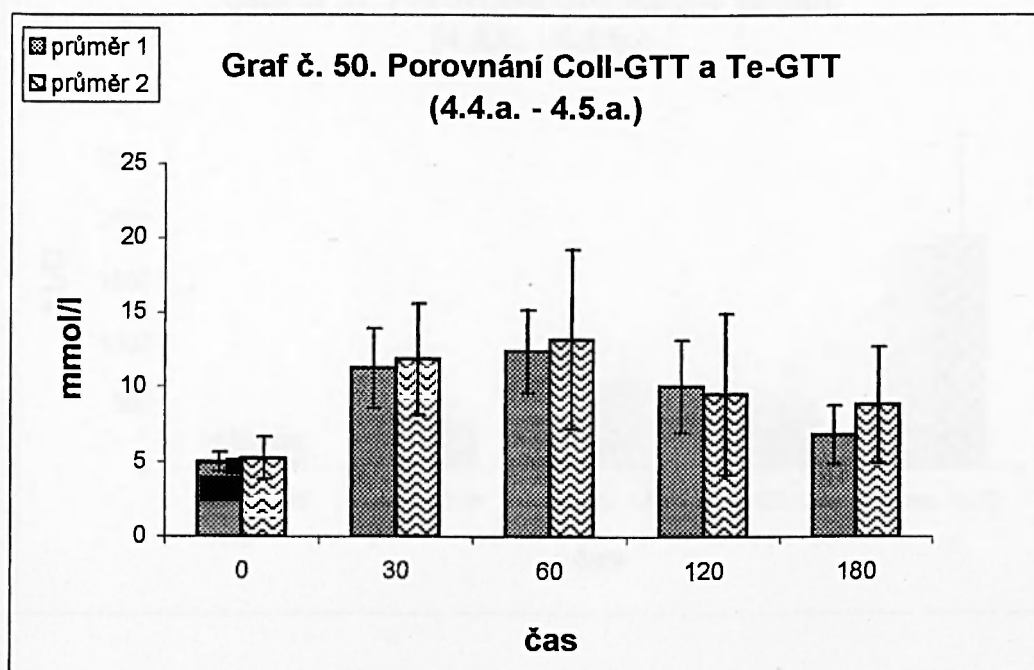
SKUPINA 4 - samice SHR

Druhé pásmo:

Porovnání Coll-GTT a Te-GTT (4.4.a. - 4.5.a.), (n=11/5)

	0	30	60	120	180
průměr 1	4,99	11,24	12,37	10,07	6,82
průodch	0,39	1,91	2,19	2,35	1,58
smodch	0,63	2,70	2,80	3,10	1,93

	0	30	60	120	180
průměr 2	5,24	11,86	13,20	9,52	8,84
průodch	0,98	2,95	5,28	4,26	2,81
smodch	1,44	3,74	6,04	5,41	3,88

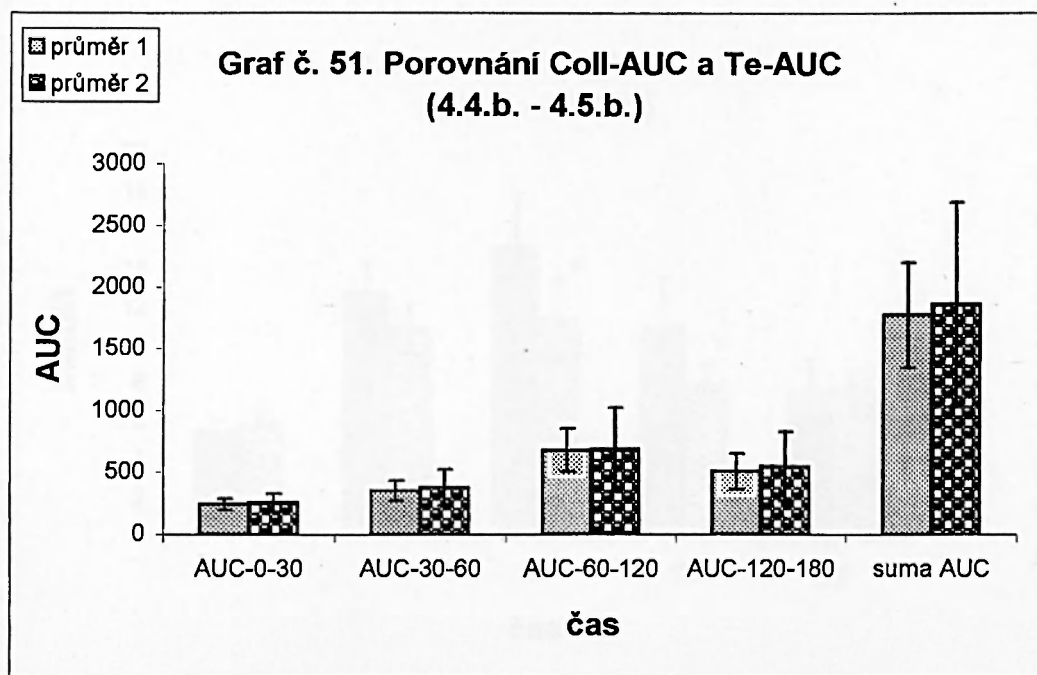


Při porovnání Coll skupiny a Te skupiny jsme nenalezli statisticky významný rozdíl mezi hodnotami ve sledovaných časech odběru. V grafickém znázornění vidíme, že basální glykémie u zvířat s terguridem byla nepatrně vyšší a také ve 30., 60. a 180. minutě je patrná vyšší glykémie u zvířat s terguridem.

Porovnání Coll-AUC a Te-AUC (4.4.b. - 4.5.b.)

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 1	243,41	354,14	673,36	506,73	1777,64
průdch	31,41	58,26	132,94	112,02	325,26
smodch	47,96	78,19	173,18	142,90	425,91

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 2	256,50	375,90	681,60	550,80	1864,80
průdch	57,60	123,48	286,32	212,16	679,56
smodch	76,30	143,97	336,76	277,16	825,93



Ani při porovnání AUC výše zmíněných zvířat jsme nenalezli statisticky významný rozdíl mezi hodnotami v jednotlivých pásmech. Při porovnání sumy AUC obou skupin rovněž nebyl nalezen statisticky významný rozdíl, třebaže vidíme že suma AUC Te skupiny je větší (o 5%) než suma AUC Coli skupiny.

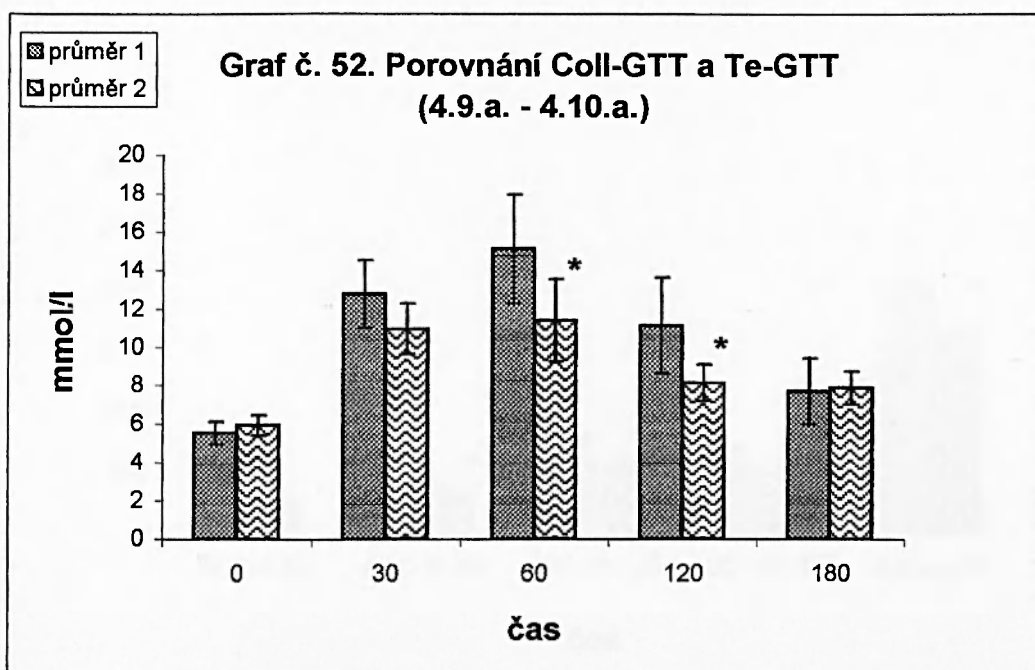
Při porovnání Col a Te skupiny (4.3.b. a 4.5.b.) jsme našli u Te skupiny sumu AUC o 21% větší než sumu AUC u Col skupiny (nezobrazeno).

Třetí pásmo:

Porovnání Coll-GTT a Te-GTT (4.9.a. - 4.10.a.), (n=7/6)

	0	30	60	120	180
průměr 1	5,54	12,76	15,10	11,10	7,71
průdch	0,49	1,39	1,89	2,09	1,36
smodch	0,60	1,76	2,83	2,49	1,71

	0	30	60	120	180
průměr 2	5,93	10,93	11,35	8,12	7,90
průdch	0,43	1,01	1,75	0,82	0,63
smodch	0,54	1,34	2,15	0,96	0,85

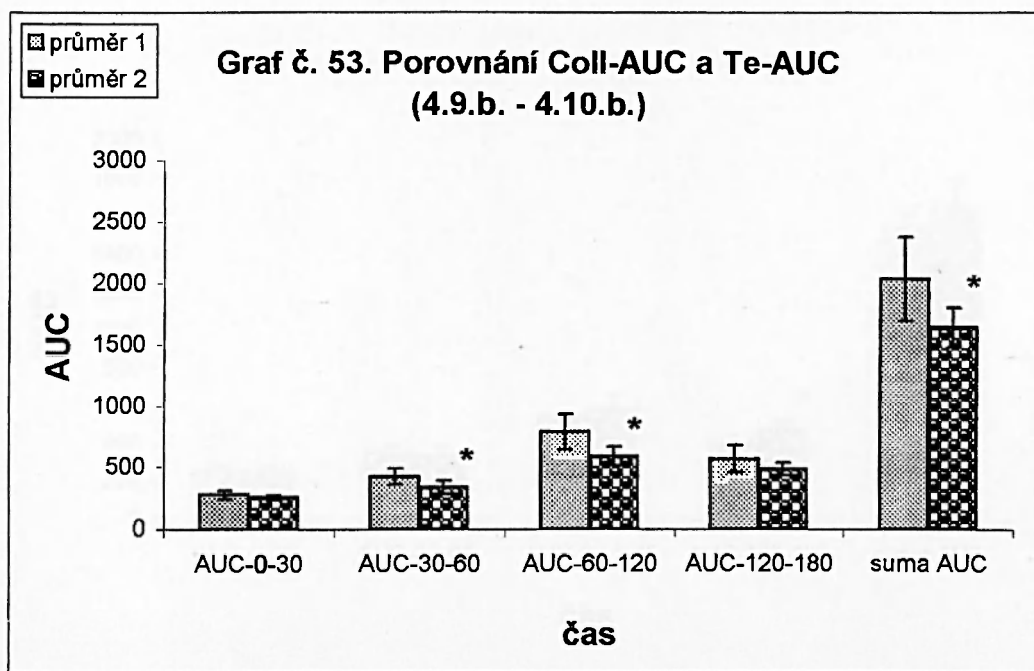


Při porovnání Coll a Te skupiny jsme našli statisticky významně vyšší hodnotu glykémie u Coll skupiny a to v 60.minutě odběru (*P je menší než 0,05*) a ve 120.minutě odběru (*P je menší než 0,05*). Hodnoty basální glykémie se statisticky významně nelišili, přestože u Te skupiny byla hodnota basální glykémie vyšší.

Porovnání Coll-AUC a Te- AUC (4.9.b. - 4.10.b.)

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 1	274,50	417,86	786,00	564,43	2042,79
průdch	24,86	44,02	104,57	87,92	250,90
smodch	32,63	65,37	146,19	111,57	340,43

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 2	253,00	334,25	584,00	480,50	1651,75
průdch	15,50	39,25	65,00	43,50	136,25
smodch	19,06	50,45	77,83	52,90	161,36

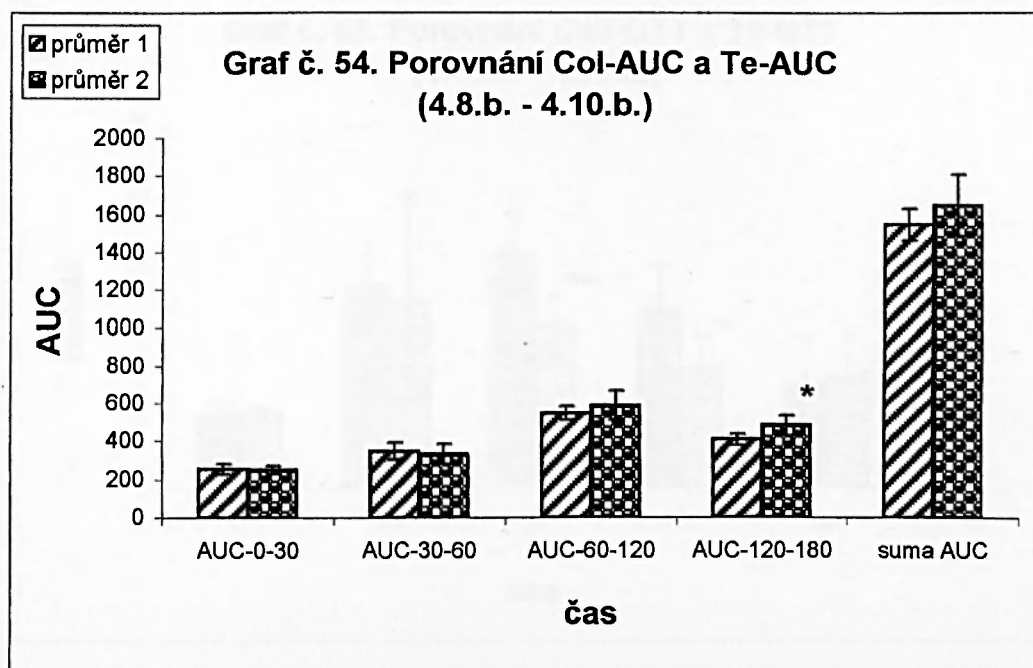


Když jsme porovnali AUC Coli skupiny a Te skupiny, našli jsme statisticky významný rozdíl mezi hodnotami AUC v těchto pásmech: 30.-60.minuta (*P je menší než 0,05*) a 60.-120.minuta (*P je menší než 0,05*). Při porovnání sumy AUC jsme našli statisticky významně nižší hodnotu (o 19%) u Te skupiny (*P je menší než 0,05*) než u Coll skupiny.

Porovnání Col-AUC a Te-AUC (4.8.b. - 4.10.b.), (n=4/6)

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 1	256,13	348,00	541,50	406,50	1552,13
průodch	21,38	34,50	27,00	21,00	70,88
smodch	26,98	41,84	36,70	29,24	84,52

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 2	253,00	334,25	584,00	480,50	1651,75
průodch	15,50	39,25	65,00	43,50	136,25
smodch	19,06	50,45	77,83	52,90	161,36

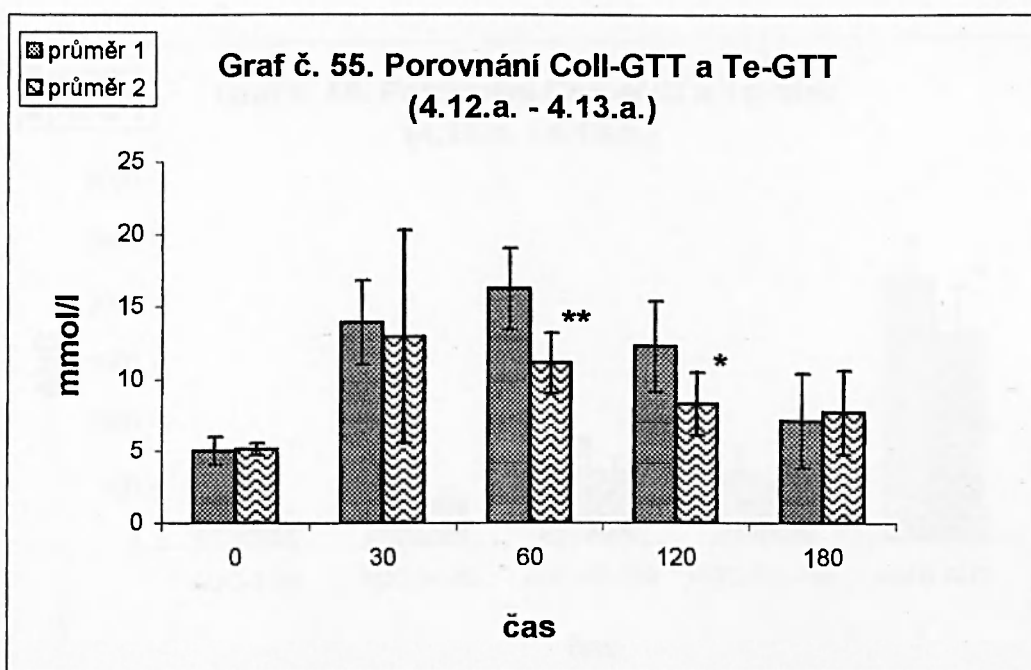


Při porovnání Col skupiny (zvířata bez oligemické hypoxie mozku, u kterých byla stanovena pouze glykemická křivka) a Te skupiny (zvířata podrobená oligemické hypoxii mozku a ovlivněná farmakologicky terguridem) jsme našli pouze v intervalu mezi 120.-180.minutou statisticky významný rozdíl mezi hodnotami (*P je menší než 0,05*). Mezi sumou AUC Col skupiny a sumou AUC Te skupiny nebyl nalezen statisticky významný rozdíl. Suma AUC Te skupiny byla o 6% větší než suma AUC Col skupiny.

Porovnání Coll-GTT a Te-GTT (4.12.a. a 4.13.a.), (n=7/6)

	0	30	60	120	180
průměr 1	5,00	13,89	16,20	12,24	7,11
průdch	0,66	2,01	2,20	2,33	2,56
smodch	0,97	2,89	2,82	3,13	3,31

	0	30	60	120	180
průměr 2	5,12	12,90	11,07	8,25	7,72
průdch	0,32	4,90	1,44	1,50	1,96
smodch	0,40	7,38	2,10	2,22	2,94

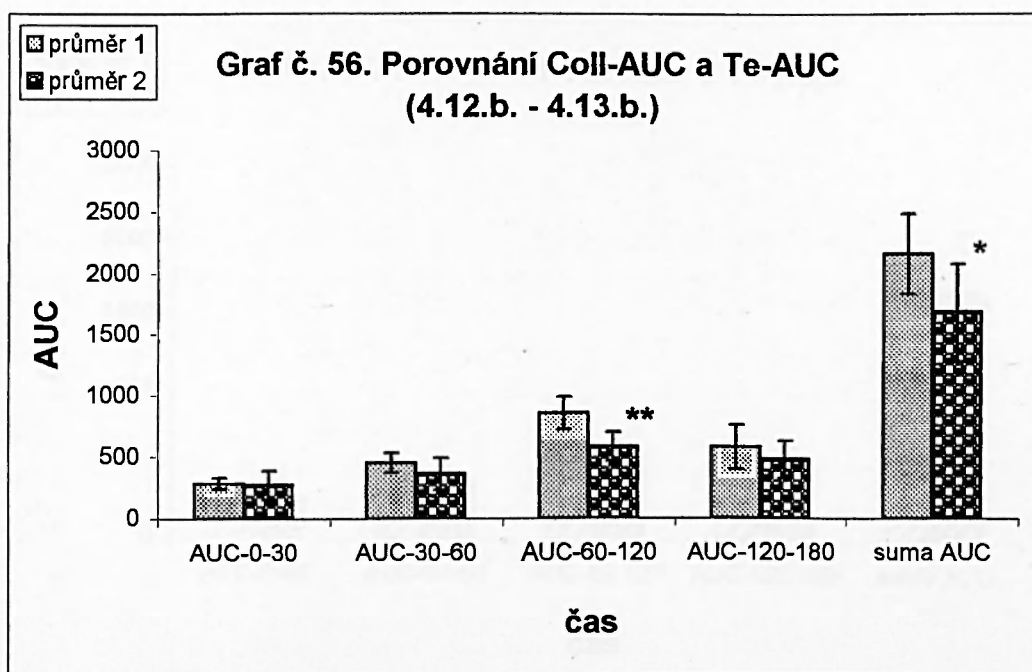


Při porovnání glykemické křivky Coli skupiny a Te skupiny jsme našli statisticky významný rozdíl mezi hodnotami glykémie v 60.minutě odběru (*P je menší než 0,01*) a ve 120.minutě odběru (*P je menší než 0,05*). Basální glykémie obou skupin se statisticky významně nelišila.

Porovnání Coll-AUC a Te-AUC (4.12.b. - 4.13.b.)

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 1	283,29	451,29	853,29	580,71	2168,57
průdch	33,55	59,69	106,53	139,59	270,06
smodch	45,62	79,29	131,41	182,89	327,74

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 2	270,25	359,50	579,50	479,00	1688,25
průdch	75,92	93,83	78,50	102,33	332,00
smodch	114,49	128,44	119,31	153,83	397,80

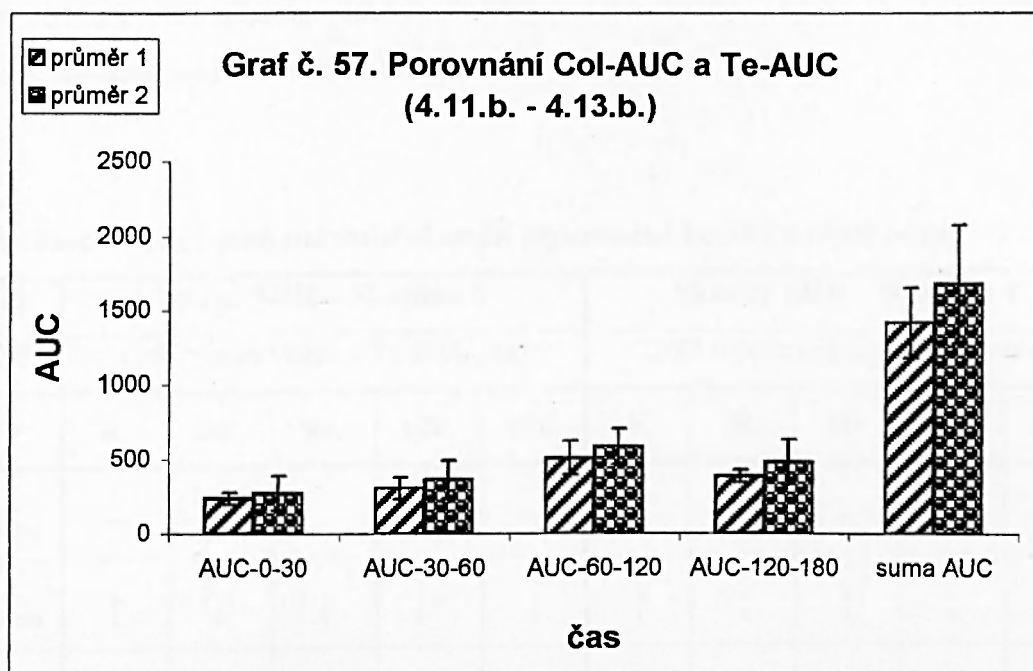


Při porovnání AUC Coli skupiny a Te skupiny výše uvedených zvířat jsme našli statisticky významný rozdíl mezi hodnotami v pásmu 60.-120.minuta (P je menší než 0,01). Když jsme porovnali sumu AUC těchto skupin, zjistili jsme, že suma AUC u Coll skupiny je statisticky významně vyšší (o 22%) než u Te skupiny.

Porovnání Col-AUC a Te-AUC (4.11.b. - 4.13.b.), (n=6/6)

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 1	234,50	304,75	504,00	382,50	1425,75
průdch	33,50	52,25	82,00	30,50	167,25
smodch	40,00	72,53	112,54	44,12	237,61

	AUC-0-30	AUC-30-60	AUC-60-120	AUC-120-180	suma AUC
průměr 2	270,25	359,50	579,50	479,00	1688,25
průdch	75,92	93,83	78,50	102,33	332,00
smodch	114,49	128,44	119,31	153,83	397,80



Zde jsme při porovnání Col skupiny (zvířata bez oligemické hypoxie mozku, u kterých byla stanovena pouze glykemická křivka) a Te skupiny (zvířata podrobená oligemické hypoxii mozku a ovlivněná farmakologicky terguridem) nenalezli statisticky významný rozdíl mezi hodnotami ani v jednom ze sledovaných intervalů. Při porovnání sumy AUC Col skupiny a AUC Te skupiny jsme rovněž nenalezli statisticky významný rozdíl mezi hodnotami. Suma AUC Te skupiny byla o 16% vyšší než suma AUC Col skupiny.

Souborné přehledy výsledků vlivu terguridu na hladinu krevní glukosy u zvířat Koletského typu

Symbole použité v přehledech:

* = $P < 0,05$

** = $P < 0,01$

*** = $P < 0,001$

- v tomto pásmu nebyly experimenty provedeny

↑ = hodnota je vyšší (při porovnání CoII versus Te, pak u Te)

↓ = hodnota je nižší (při porovnání CoII versus Te, pak u Te)

⊕ = statisticky významná změna nastala

⊖ = statisticky významná změna nenastala

Tabulka č. 9: Souborné znázornění změn glykemické křivky u SHR zvířat

věk (měsíce)	Samci SHR – Skupina 3					Samice SHR – Skupina 4				
	CoII v porovnání s Te skupinou					CoII v porovnání s Te skupinou				
čas	0.	30.	60.	120.	180.	0.	30.	60.	120.	180.
1. pásmo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2. pásmo	↑	↓	↓	↓*	↓	↑	↑	↑	↓	↑
3. pásmo	↓	↓	↓	↓	↓	↑	↓	↓*	↓*	↑
						↑	↓	↓**	↓*	↑
4. pásmo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5. pásmo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabulka č. 10: Souborné znázornění změn basální glykémie a sumy AUC

věk (měsíce)	Samci SHR – Skupina 3		Samice SHR – Skupina 4	
	CoII v porovnání s Te skupinou		CoII v porovnání s Te skupinou	
	Statisticky významná změna basální glykémie	Statisticky významná změna sumy AUC	Statisticky významná změna basální glykémie	Statisticky významná změna sumy AUC
4	-	-	-	-
4,5	-	-	-	-
5	∅	↓∅	-	-
6	∅	↓∅	∅	↑∅
6,5	-	-	-	-
7	-	-	∅	↓⊕
8	∅	↓∅	∅	↓⊕
9	-	-	-	-
10	-	-	-	-
10,5	-	-	-	-
11	-	-	-	-

4.3.1.4. Vliv terguridu na podíl vody v mozku u obou kmenů zvířat

Zde uvádíme výsledky šetření, zda-li tergurid snižuje podíl vody v mozku u zvířat podrobených oligemické hypoxii mozku. Tato sledování jsme prováděli na mozkové tkáni, kterou jsme odebírali a vyšetřovali způsobem popsáním v kapitole o metodách. Podíl vody v mozku jsme sledovali ve všech stanovených pásmech a skupinách u samců i samic obou kmenů zvířat.

SKUPINA 1 - samci NR

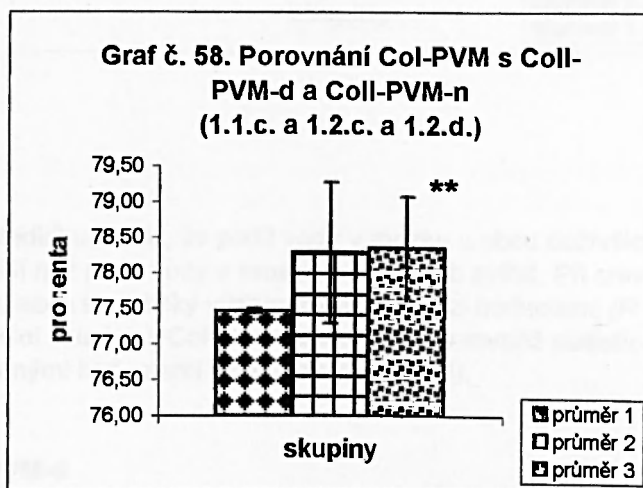
Druhé pásmo:

Porovnání Col-PVM s Coll-PVM-doživší(d) a Coll-PVM-nedoživší(n)
(1.1.c. a 1.2.c. a 1.2.d.), (n=7/3/11)

podíl vody/%	
průměr 1	77,47
průdch	0,02
smodch	0,03

podíl vody/%	
průměr 2	78,29
průdch	0,76
smodch	0,99

podíl vody/%	
průměr 3	78,35
průdch	0,35
smodch	0,73



** = *P* je menší než 0,01

Znázorněné hodnoty podílu vody v mozku ukazují, že procentuální množství vody v mozku zvířat podrobených oligemické hypoxii mozku ve srovnání s intaktními zvířaty je markantně u vyšší doživších i nedoživších zvířat Coli skupiny. Statistická významnost (*P* je menší než 0,01) neshody hodnot byla nalezena při srovnání Col skupiny a Coli nedoživších. U Coll-n byl nalezen statisticky větší podíl vody v mozku, což koresponduje s tím, že tato zvířata nepřežila reperfuční období.

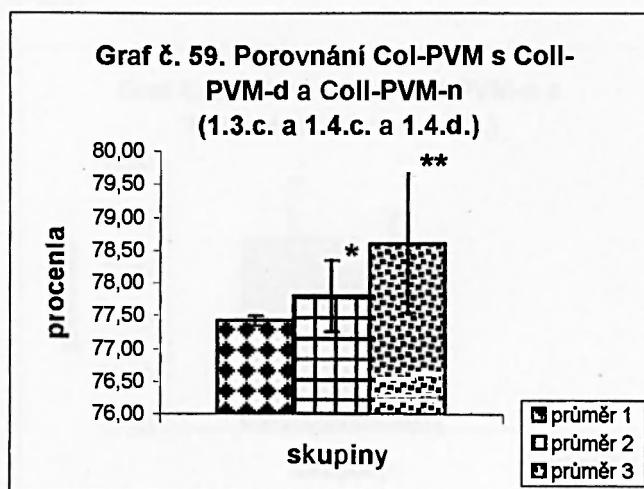
Třetí pásmo:

Porovnání Col-PVM s Coll-PVM-d a Coll-PVM-n (1.3.c. a 1.4.c. a 1.4.d.), (n=6/12/14)

podíl vody/%	
průměr 1	77,42
průodch	0,05
smodch	0,07

podíl vody/%	
průměr 2	77,80
průodch	0,38
smodch	0,54

podíl vody/%	
průměr 3	78,6
průodch	0,82
smodch	1,06



* = *P* je menší než 0,05

** = *P* je menší než 0,01

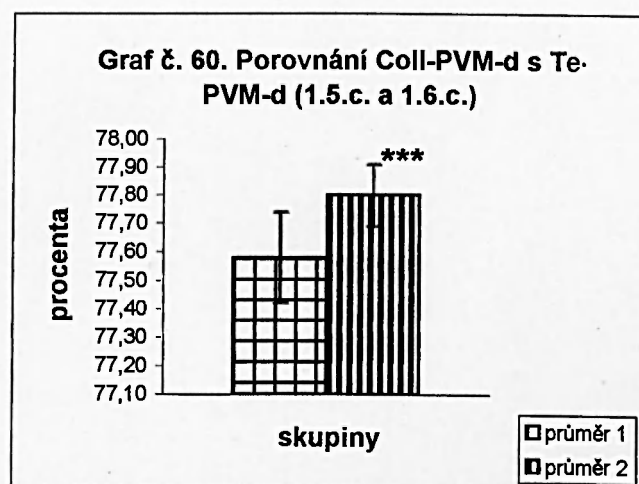
Grafické znázornění těchto výsledků ukazuje, že podíl vody v mozku u obou doživších i nedoživších skupin Coll je vyšší než podíl vody v mozku u intaktních zvířat. Při srovnání skupiny Col s Coll-d byl nalezen statisticky významný rozdíl mezi hodnotami (*P* je menší než 0,05). Porovnání Col skupiny s Coll-n skupinou ukázalo rovněž statisticky významný rozdíl mezi nalezenými hodnotami (*P* je menší než 0,01).

Porovnání Coll-PVM-d s Te-PVM-d (1.5.c. a 1.6.c.), (n=4/5)

podíl vody/%	
průměr 1	77,58
průodch	0,10
smodch	0,16

podíl vody/%	
průměr 2	77,80
průodch	0,08
smodch	0,11

*** = *P* je menší než 0,001

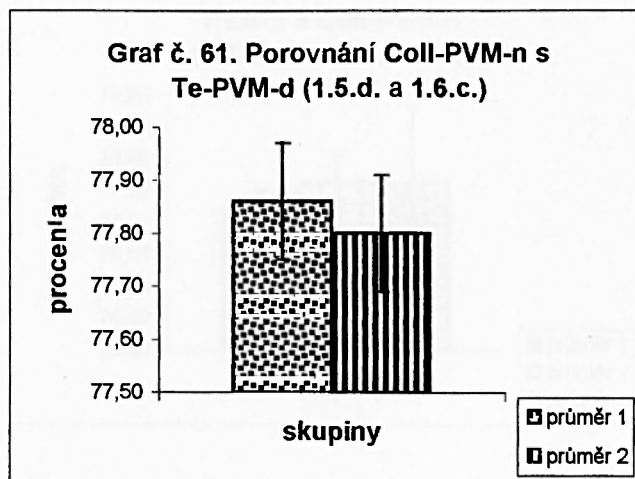


Při porovnání hodnot nalezených u doživších zvířat Coli skupiny a doživších zvířat Te skupiny byl nalezen statisticky významný rozdíl (*P* je menší než 0,001). U zvířat, kterým byl aplikován chronicky tergurid byl podíl vody v mozku významně vyšší.

Porovnání Coll-PVM-n s Te-PVM-d
(1.5.c. a 1.6.c.), (n=2/5)

podíl vody/%	
průměr 1	77,86
průodch	0,08
smodch	0,11

podíl vody/%	
průměr 2	77,80
průodch	0,08
smodch	0,11



Při porovnání hodnot u nedoživších zvířat Coli skupiny s Te skupinou doživších zvířat byl podíl vody v mozku u nedoživších zvířat vyšší než u doživších zvířat, u kterých byl podáván tergurid. Avšak tento rozdíl nebyl statisticky významný.

Čtvrté pásmo:

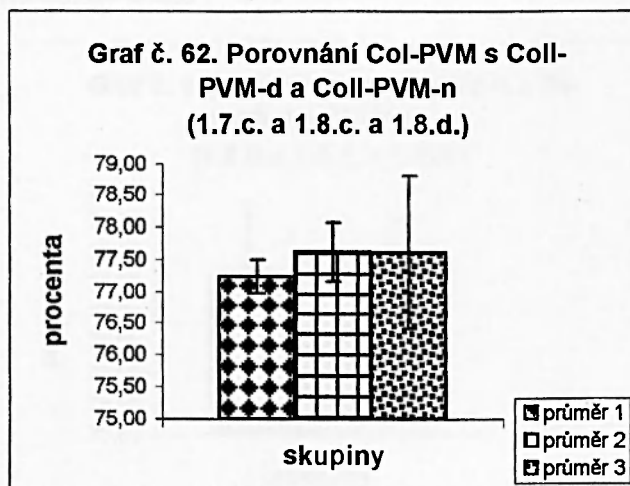
Porovnání Col-PVM s Coll-PVM-d a Coll-PVM-n

(1.7.c. a 1.8.c. a 1.8.d.), (n=7/6/9)

podíl vody/%	
průměr 1	77,24
průodch	0,22
smodch	0,26

podíl vody/%	
průměr 2	77,62
průodch	0,36
smodch	0,45

podíl vody/%	
průměr 3	77,61
průodch	0,74
smodch	1,20



Při porovnání intaktních zvířat Col skupiny s doživšími a nedoživšími zvířaty Coli skupiny jsme našli podobný nárůst podílu vody v mozku u doživších zvířat Coli skupiny. Podobně jako tomu bylo při předchozích porovnáních (viz graf č. 58 a č. 59), avšak zde nárůst nebyl statisticky významný. Při porovnání nedoživších zvířat s Coli skupinou nebyl rovněž nalezen statisticky významný rozdíl mezi posuzovanými hodnotami, přestože nárůst podílu vody v mozku u nedoživších byl zřetelně vyšší než u Col. Tento nález odpovídá velikosti směrodatné odchylky této skupiny zvířat.

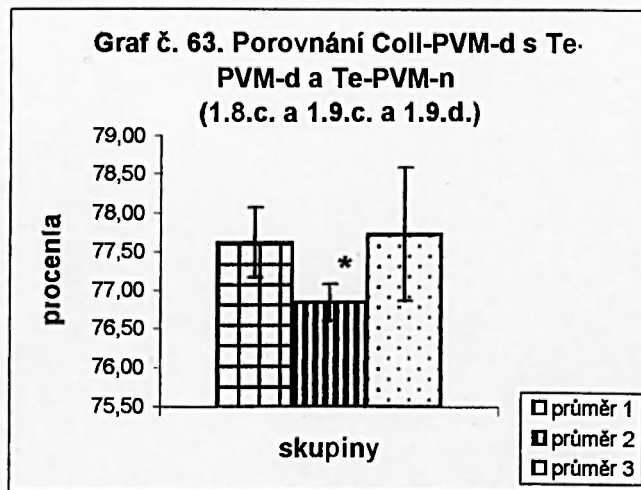
Porovnání Coll-PVM-d s Te-PVM-d a Te-PVM-n

(1.8.c. a 1.9.c. a 1.9.d.), (n=5/3/5)

podíl vody/%	
průměr 1	77,62
průodch	0,36
smodch	0,45

podíl vody/%	
průměr 2	76,84
průodch	0,18
smodch	0,24

podíl vody/%	
průměr 3	77,72
průodch	0,71
smodch	0,86



* = *P* je menší než 0,05

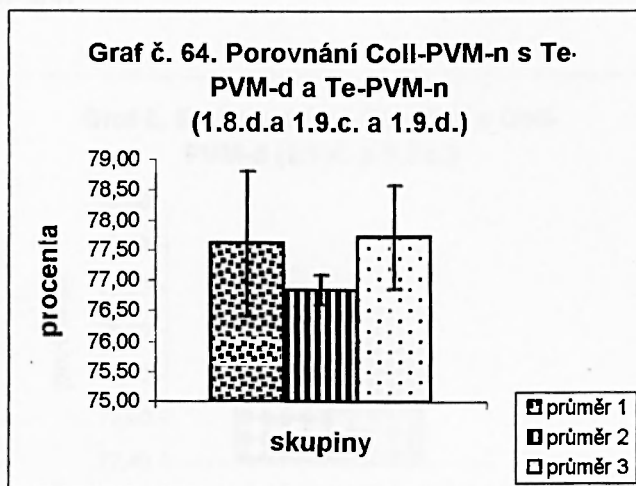
Porovnání zvířat Coli skupiny s doživšími zvířaty Te skupiny ukázalo statisticky významně nižší (*P* je menší než 0,05) podíl vody v mozku u Te skupiny. Při porovnání doživších zvířat Coli skupiny s Te skupinou nedoživších zvířat nebyl nalezen statisticky významný rozdíl mezi sledovanými hodnotami.

Porovnání Coll-PVM-n s Te-PVM-d a Te-PVM-n
(1.8.d. a 1.9.c. a 1.9.d.), (n=9/3/5)

podíl vody/%	
průměr 1	77,61
průodch	0,74
smodch	1,20

podíl vody/%	
průměr 2	76,84
průodch	0,18
smodch	0,24

podíl vody/%	
průměr 3	77,72
průodch	0,71
smodch	0,86



Při porovnání nedoživších zvířat Coil skupiny s Te skupinou doživších zvířat a Te skupinou nedoživších zvířat nebyl nalezen statisticky významný rozdíl mezi hodnotami. Porovnání doživších a nedoživších zvířat Te skupiny také neukázalo statisticky významný rozdíl mezi podílem vody v mozku u těchto zvířat.

SKUPINA 2 - samice NR

První pásmo:

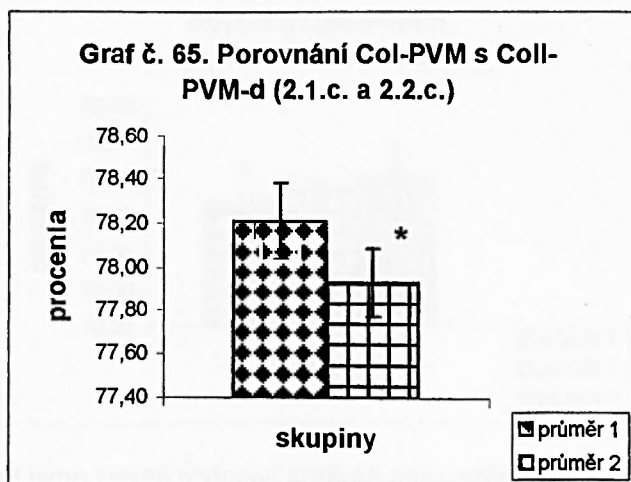
Porovnání Col-PVM s Coll-PVM-d

(2.1.c a 2.2.c.), (n=8/4)

podíl vody/%	
průměr 1	78,21
průodch	0,13
smodch	0,17

podíl vody/%	
průměr 2	77,93
průodch	0,11
smodch	0,16

* = *P* je menší než 0,05



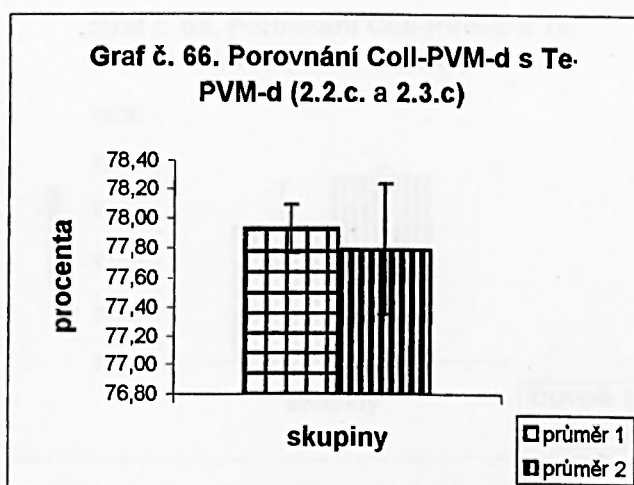
Při porovnání těchto dvou skupin zvířat jsme našli statisticky významný rozdíl mezi sledovanými hodnotami (*P* je menší než 0,05), ale naprosto opačně, než jsme předpokládali. Intaktní zvířata vykazala statisticky významně vyšší podíl vody v mozku než přeživší zvířata podrobená oligemické hypoxii mozku.

Porovnání Coll-PVM-d s Te-PVM-d

(2.2.c. a 2.3.c.), (n=4/4)

podíl vody/%	
průměr 1	77,93
průodch	0,11
smodch	0,16

podíl vody/%	
průměr 2	77,79
průodch	0,32
smodch	0,44



Porovnání hodnot Coli skupiny doživších zvířat s Te skupinou doživších zvířat ukázalo sice menší množství vody v mozku u zvířat s aplikovaným tergidem, ale tento rozdíl nebyl statisticky významný.

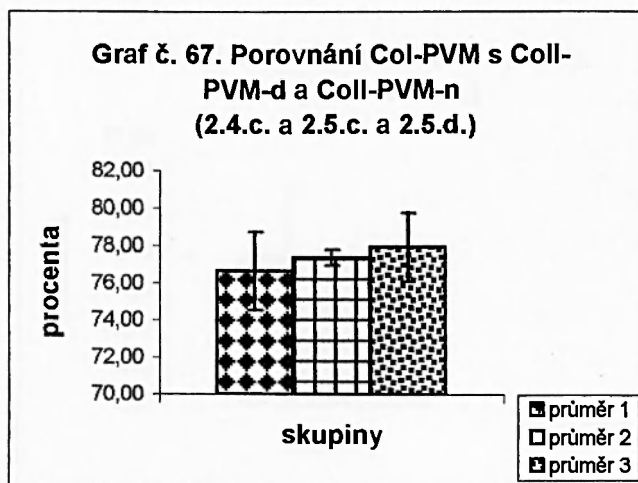
Druhé pásmo:

Porovnání Col-PVM s Coll-PVM-d a Coll-PVM-n (2.4.c. a 2.5.c. a 2.5.d.), (n= 6/12/11)

podíl vody/%	
průměr 1	76,62
průodch	1,43
smodch	2,11

podíl vody/%	
průměr 2	77,36
průodch	0,35
smodch	0,43

podíl vody/%	
průměr 3	77,94
průodch	0,95
smodch	1,84

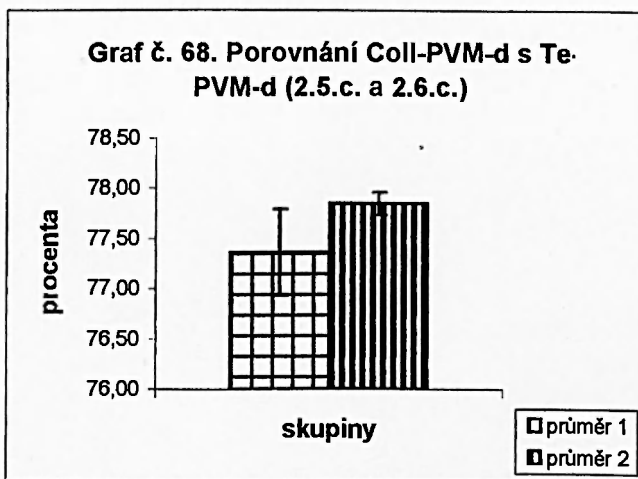


Při porovnání sledovaných hodnot jsme získali obdobné grafické znázornění jako ve druhém a třetím pásmu skupiny 1 (NR samci), (viz graf č. 58 a č. 59). I zde jsme zjistili, že podíl vody v mozku u Coll skupiny doživších zvířat je vyšší než podíl vody v mozku u Col skupiny a že podíl vody v mozku u Coll skupiny nedoživších zvířat je vyšší než u Coll skupiny doživších zvířat. Nalezené rozdíly však nejsou statisticky významné.

Porovnání Coll-PVM-d s Te-PVM-d (2.5.c. a 2.6.c.), (n=12/2)

podíl vody/%	
průměr 1	77,36
průodch	0,35
smodch	0,43

podíl vody/%	
průměr 2	77,84
průodch	0,07
smodch	0,11

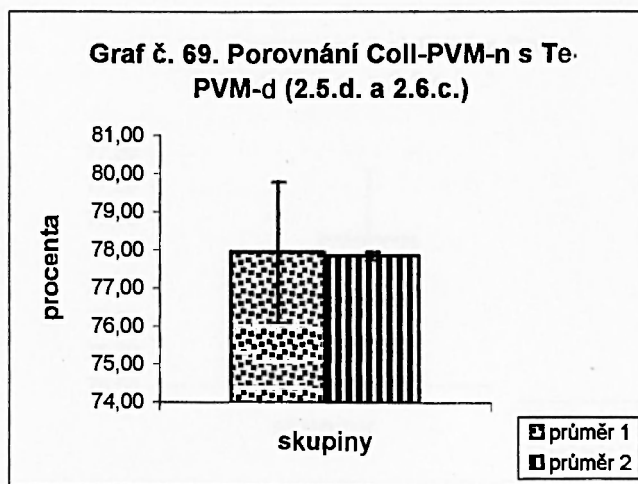


Při porovnání sledovaných hodnot nebyl nalezen statisticky významný rozdíl mezi oběma skupinami. Te skupina vykázala větší podíl vody v mozku než Coli skupina.

Porovnání Coll-PVM-n s Te-PVM-d
(2.5.d. a 2.6.c.), (n=11/2)

podíl vody/%	
průměr 1	77,94
průodch	0,95
smodch	1,84

podíl vody/%	
průměr 2	77,84
průodch	0,07
smodch	0,11



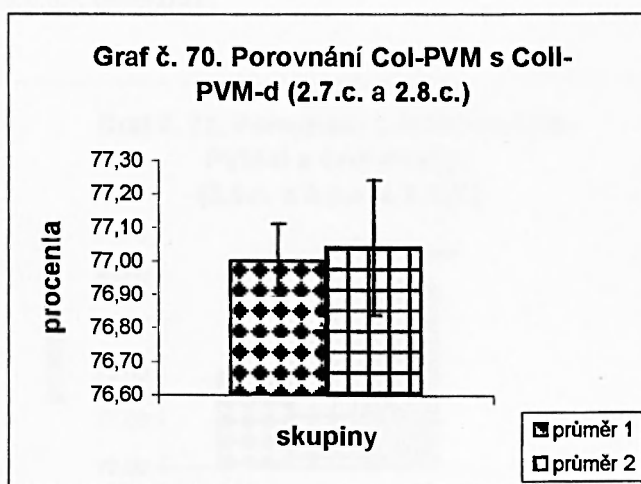
Při vyhodnocení dat mezi skupinou nedoživších Coll skupiny a skupinou doživších Te skupiny nebyl nalezen statisticky významný rozdíl. Rozdíl mezi oběma skupinami byl velmi těsný.

Třetí pásmo:

Porovnání Col-PVM s Coll-PVM-d (2.7.c. a 2.8.c.), (n=7/6)

podíl vody/%	
průměr 1	77,00
průodch	0,10
smodch	0,11

podíl vody/%	
průměr 2	77,04
průodch	0,16
smodch	0,20



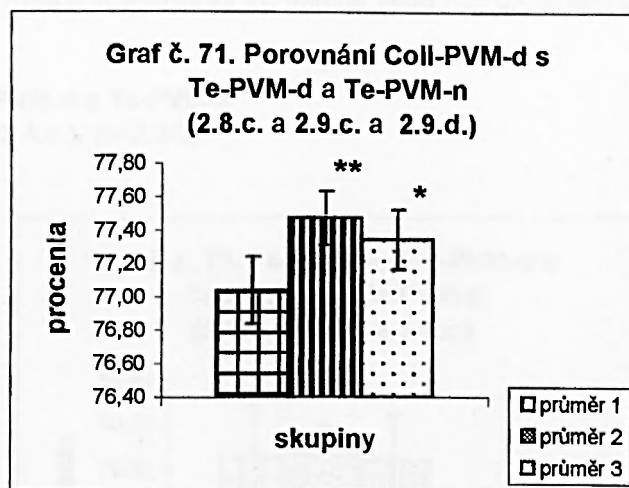
Podobně jako v obdobných srovnáních (viz graf č. 58, 59, 62, 67), kde jsme porovnávali intaktní skupinu zvířat se skupinou, kde byla navozena oligemická hypoxie mozku, byl nalezen větší podíl vody v mozku u druhé skupiny (Coil). V tomto porovnání však nebyl nalezen statisticky významný rozdíl mezi danými hodnotami.

Porovnání Coll-PVM-d s Te-PVM-d a Te-PVM-n (2.8.c. a 2.9.c. s 2.9.d.), (n=6/4/2)

podíl vody/%	
průměr 1	77,04
průodch	0,16
smodch	0,20

podíl vody/%	
průměr 2	77,47
průodch	0,11
smodch	0,16

podíl vody/%	
průměr 3	77,34
průodch	0,13
smodch	0,18



* = *P* je menší než 0,05

** = *P* je menší než 0,01

Při porovnání dat v těchto skupinách jsme zjistili, že doživší (*P* je menší než 0,01) a nedoživší (*P* je menší než 0,05) zvířata s aplikovaným terguridem, vykazovala statisticky významně větší podíl vody v mozku, než zvířata bez terapie. U doživších zvířat z Te skupiny se objevil dokonce větší podíl vody v mozku než u zvířat nedoživších.

SKUPINA 1 - samc SHR

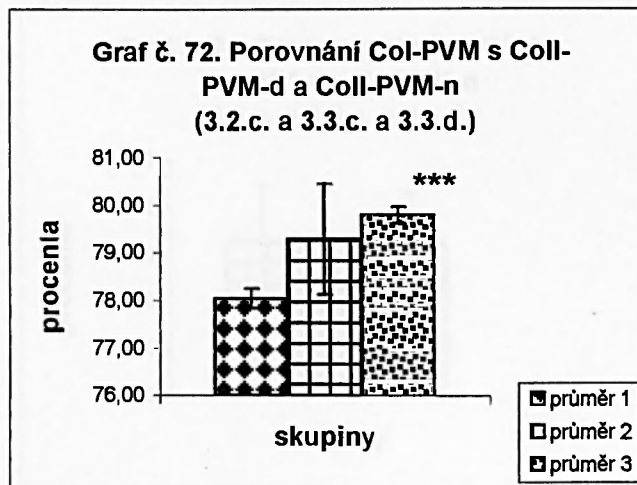
Druhé pásmo:

Porovnání Col-PVM s Coll-PVM-d a Coll-PVM-n (3.2.c. a 3.3.c. a 3.3.d.), (n=8/2/3)

podíl vody/%	
průměr 1	78,04
průodch	0,14
smodch	0,21

podíl vody/%	
průměr 2	79,29
průodch	0,82
smodch	1,16

podíl vody/%	
průměr 3	79,80
průodch	0,14
smodch	0,18



*** = P je menší 0,001

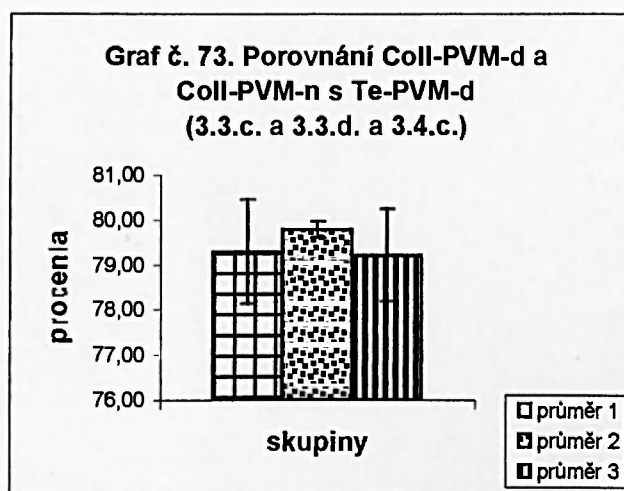
Grafické znázornění výsledků získaných u těchto skupin nám poskytlo podobný obraz jako u grafů č. 58, 59, 62, 67 a 70. I zde jsme našli fakt, že podíl vody v mozku u Coli skupiny doživších zvířat je větší než tato hodnota u intaktních zvířat Col skupiny, avšak rozdíl mezi těmito skupinami nebyl statisticky významný. Dále jsme našli, že podíl vody v mozku u Coll-nedoživších je statisticky významně vyšší než u Col skupiny (P je menší než 0,001).

Porovnání Coll-PVM-d a Coll-PVM-n s Te-PVM-d (3.3.c. a 3.3.d. a 3.4.c.), (n=2/3/3)

podíl vody/%	
průměr 1	79,29
průodch	0,82
smodch	1,16

podíl vody/%	
průměr 2	79,80
průodch	0,14
smodch	0,18

podíl vody/%	
průměr 3	79,22
průodch	0,77
smodch	1,03



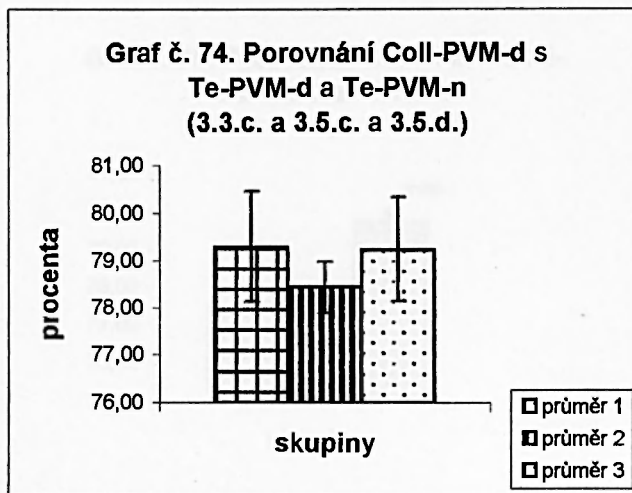
Při porovnání zvířat s aplikovaným terguridem s doživšími a nedoživšími zvířaty Coli skupiny nebylo nalezeno statisticky významné snížení podílu vody v mozku u Te skupiny.

Porovnání Coll-PVM-d s Te-PVM-d Te-PVM-n
(3.3.c. a 3.5.c. a 3.5.d.), (n=2/5/2)

podíl vody/%	
průměr 1	79,29
průodch	0,82
smodch	1,16

podíl vody/%	
průměr 2	78,44
průodch	0,42
smodch	0,55

podíl vody/%	
průměr 3	79,24
průodch	0,78
smodch	1,10



Při pohledu na graf vidíme viditelné snížení podílu vody v mozku u doživších zvířat s aplikovaným terguridem, ale toto snížení není statisticky významné. Mezi skupinou Coll a Te skupinou s aplikovaným terguridem, která nepřežila není patrný velký rozdíl, ani zde nebyl nalezen statisticky významný rozdíl mezi skupinami. Tyto výsledky lze přičítat malému množství doživších zvířat v jednotlivých skupinách.

Třetí pásmo:

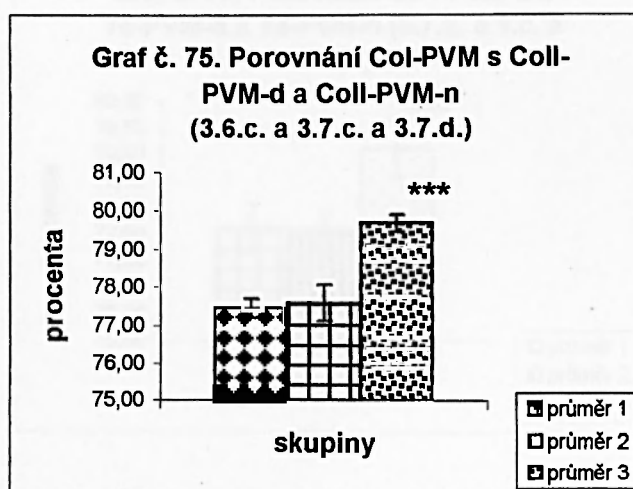
Porovnání Col-PVM s Coll-PVM-d a Coll-PVM-n

(3.6.c. a 3.7.c. a 3.7.d.), (n=11/6/3)

podíl vody/%	
průměr 1	77,46
průodch	0,21
smodch	0,25

podíl vody/%	
průměr 2	77,60
průodch	0,38
smodch	0,46

podíl vody/%	
průměr 3	79,70
průodch	0,17
smodch	0,22



*** = P je menší než 0,001

Při porovnání Coli skupiny a Coli skupiny doživších zvířat byl zjištěn větší podíl vody v mozku, tento rozdíl však nebyl statisticky významný. Avšak při porovnání Col skupiny s Coll skupinou nedoživších zvířat byl nalezen statisticky významný rozdíl mezi sledovanými hodnotami (P je menší než 0,001). Získali jsme podobný obraz jako je patrný v grafu č. 58, 59, 62, 67, 70 a 72.

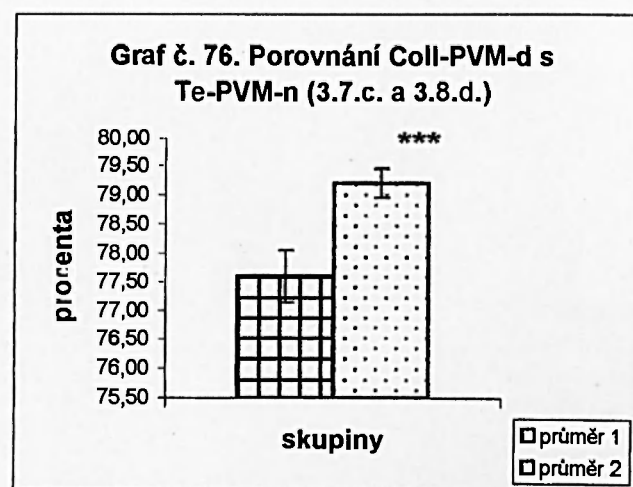
Porovnání Coll-PVM-d s Te-PVM-n

(3.7.c. a 3.8.d.), (n=3/3)

podíl vody/%	
průměr 1	77,60
průodch	0,38
smodch	0,46

podíl vody/%	
průměr 2	79,20
průodch	0,16
smodch	0,24

*** = P je menší než 0,001



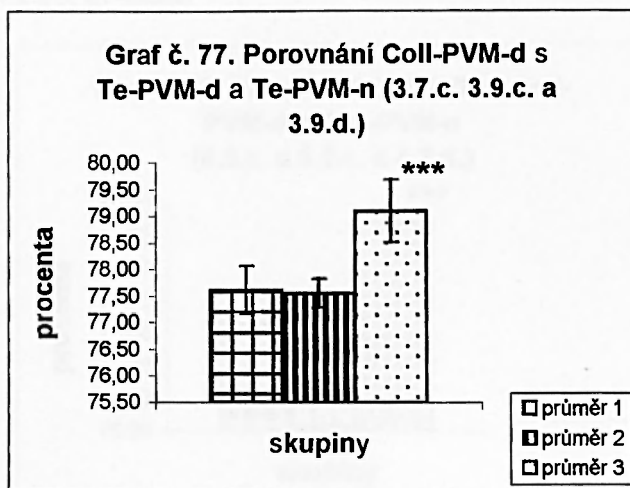
Zde při porovnání hodnot Coll skupiny doživších zvířat a Te skupiny nedoživších zvířat jsme našli statisticky významně větší podíl vody v mozku u zvířat s aplikovaným terguridem (P je menší než 0,001). Zde se jeví tergurid, z hlediska podílu vody v mozku, jako zhoršující faktor.

Porovnání Coll-PVM-d s Te-PVM-d a Te-PVM-n
(3.7.c. a 3.9.c. a 3.9.d.), (n=6/2/7)

podíl vody/%	
průměr 1	77,60
průodch	0,38
smodch	0,46

podíl vody/%	
průměr 2	77,55
průodch	0,19
smodch	0,27

podíl vody/%	
průměr 3	79,09
průodch	0,42
smodch	0,58



*** = *P* je menší než 0,001

Při porovnání Coll skupiny doživších zvířat s doživšími zvířaty Te skupiny nebyl nalezen statisticky významný rozdíl mezi porovnávanými hodnotami. Jestliže jsme porovnali Coli skupinu doživších zvířat s nedoživšími zvířaty Te skupiny, zjistili jsme statisticky významně vyšší podíl vody v mozku u zvířat s aplikovaným terguridem (*P* je menší než 0,001).

SKUPINA 4 - samice SHR

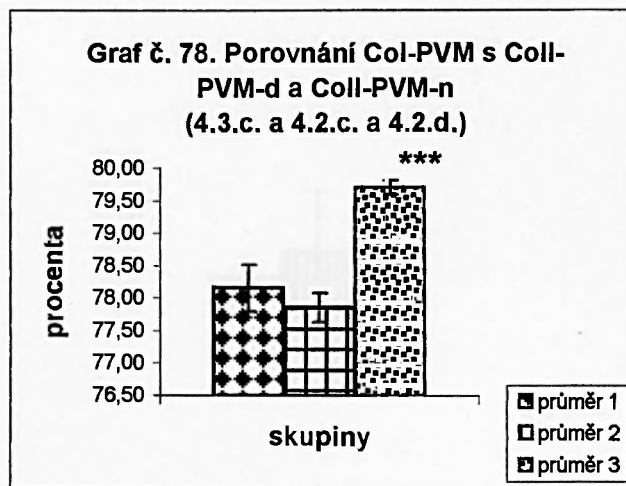
Druhé pásmo:

Porovnání Col-PVM s Coll-PVM-d a Coll-PVM-n (4.3.c. a 4.2.c. a 4.2.d.), (n=8/3/2)

podíl vody/%	
průměr 1	78,16
průodch	0,23
smodch	0,36

podíl vody/%	
průměr 2	77,86
průodch	0,17
smodch	0,22

podíl vody/%	
průměr 3	79,70
průodch	0,08
smodch	0,11



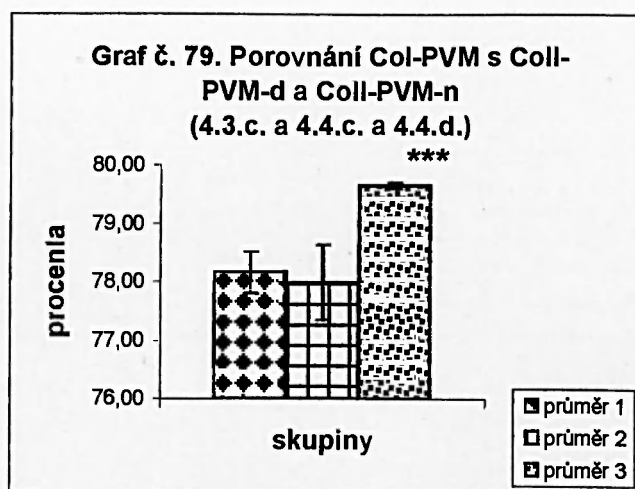
Při porovnání doživších zvířat Col skupiny a doživších zvířat Coli skupiny nebyl nalezen statisticky významný rozdíl mezi sledovanými skupinami. Při porovnání hodnot doživších zvířat skupiny Col a nedoživších zvířat Coli skupiny byla hodnota podílu vody v mozku u Coll skupiny statisticky významně vyšší (*P je menší než 0,001*) než hodnota podílu vody v mozku u Col skupiny.

Porovnání Col-PVM s Coll-PVM-d a Coll-PVM-n (4.3.c. a 4.4.c. a 4.4.d.), (n=8/11/2)

podíl vody/%	
průměr 1	78,16
průodch	0,23
smodch	0,36

podíl vody/%	
průměr 2	77,98
průodch	0,39
smodch	0,64

podíl vody/%	
průměr 3	79,64
průodch	0,04
smodch	0,05



*** = *P je menší než 0,001*

Při porovnání doživších zvířat Col skupiny a doživších zvířat Coli skupiny nebyl nalezen statisticky významný rozdíl mezi sledovanými skupinami. Při porovnání hodnot doživších zvířat skupiny Col a nedoživších zvířat Coli skupiny byla hodnota podílu vody v mozku u Coll skupiny statisticky významně vyšší (*P je menší než 0,001*) než hodnota podílu vody v mozku u Col skupiny.

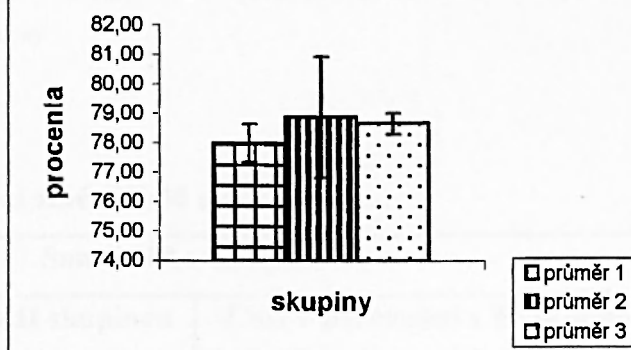
Porovnání Coll-PVM-d s Te-PVM-d a Te-PVM-n
(4.4.c. a 4.5.c. a 4.5.d.), (n=8/5/2)

podíl vody/%	
průměr 1	77,98
průodch	0,39
smodch	0,64

podíl vody/%	
průměr 2	78,87
průodch	1,46
smodch	2,05

podíl vody/%	
průměr 3	78,65
průodch	0,26
smodch	0,36

Graf č. 80. Porovnání Coll-PVM-d s Te-PVM-d a Te-PVM-n
(4.4.c. a 4.5.c. a 4.5.d.)



* = *P* je menší než 0,05

Skupina doživších zvířat s aplikovaným terguridem vykazala větší podíl vody v mozku než doživší zvířata Coll skupiny, ale rozdíl mezi hodnotami nebyl statisticky významný. Porovnávali jsme také Coli skupinu doživších zvířat s Te skupinou nedoživších zvířat. Zde hodnoty podílu vody v mozku nedoživších zvířat byly nižší než u Coll skupiny, nikoliv však statisticky významně. Při porovnání obou terguridových podskupin tzn. doživších a nedoživších zvířat nebyl nalezen statisticky významný rozdíl mezi porovnávanými hodnotami.

Souborné přehledy výsledků vlivu terguridu na podíl vody v mozku u obou kmenů zvířat

* = $P < 0,05$

** = $P < 0,01$

*** = $P < 0,001$

↑ = hodnota je vyšší (při porovnání CoI versus CoII, pak u CoII; při porovnání CoII versus Te, pak u Te)

↓ = hodnota je nižší (při porovnání CoI versus CoII, pak u CoII; při porovnání CoII versus Te, pak u Te)

- v tomto pásmu nebyly experimenty provedeny

Tabulka č. 11: Souborné znázornění změn PVM u NR samců

věk (měsíce)	Samci NR – Skupina 1					
	CoI v porovnání s CoII skupinou			CoII v porovnání s Te skupinou		
	doživší	nedoživší	úmrtnost CoII	doživší	nedoživší	úmrtnost Te
2. pásmo	↑	↑***	81%	-	-	-
3. pásmo	↑*	↑**	60%	↑*	-	38%
4. pásmo	↑	↓	73%	↓*	↑	63%

Tabulka č. 12: Souborné znázornění změn PVM u NR samic

věk (měsíce)	Samice NR – Skupina 2					
	CoI v porovnání s CoII skupinou			CoII v porovnání s Te skupinou		
	doživší	nedoživší	úmrtnost CoII	doživší	nedoživší	úmrtnost Te
1. pásmo	↓*	-	0%	↓	-	0%
2. pásmo	↑	↑	52%	↑	-	50%
3. pásmo	↑	-	38%	↑**	↑*	43%

Třetí pásmo:

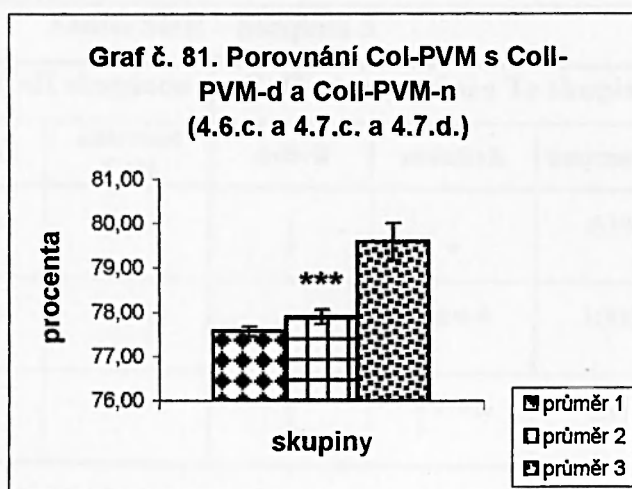
Porovnání Col-PVM s Coll-PVM-d a Coll-PVM-n

(4.6.c. a 4.7.c. a 4.7.d.), (n=9/5/2)

podíl vody/%	
průměr 1	77,57
průodch	0,08
smodch	0,11

podíl vody/%	
průměr 2	77,90
průodch	0,14
smodch	0,17

podíl vody/%	
průměr 3	79,58
průodch	0,30
smodch	0,42



*** = P je menší než 0,001

Při porovnání těchto skupin jsme získali podobný obraz jako u skupin zvířat znázorněných v grafech č. 58, 59, 62, 67, 70, 72, a 75. Coli skupina doživších zvířat vykazala statisticky významně vyšší podíl vody v mozku (P je menší 0,001) než Col skupina. Během porovnání Col skupiny a Coli skupiny nedoživších zvířat je patrný velký podíl vody v mozku u skupiny nedoživších, avšak tento rozdíl není statisticky významný.

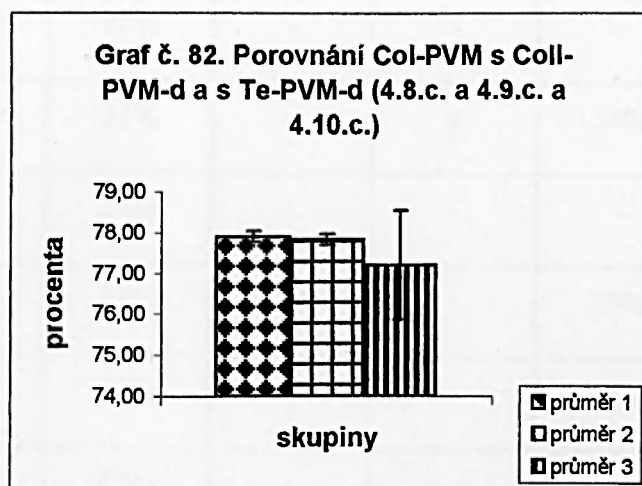
Porovnání Col-PVM s Coll-PVM-d a Coll-PVM-d s Te-PVM-d

(4.8.c. a 4.9.c. a 4.10.c.), (n=4/7/6)

podíl vody/%	
průměr 1	77,91
průodch	0,10
smodch	0,14

podíl vody/%	
průměr 2	77,83
průodch	0,10
smodch	0,13

podíl vody/%	
průměr 3	77,20
průodch	0,89
smodch	1,34



Při porovnání podílu vody v mozku vykazala nejmenší podíl vody v mozku Te skupina. Nejvyšší hodnota byla zjištěna u Col skupiny. Mezi jednotlivými skupinami nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly.

Tabulka č. 13: Souborné znázornění změn PVM u SHR samců

věk (měsíce)	Samci SHR – Skupina 3					
	CoI v porovnání s CoII skupinou			CoII v porovnání s Te skupinou		
	doživší	nedoživší	úmrtnost CoII	doživší	nedoživší	úmrtnost Te
2. pásno	↑	↑***	75%	↓	↓	63%
3. pásno	↑	↑***	54%	-	↑***	100%
	-	-	-	↓	↑***	83%

Tabulka č. 14: Souborné znázornění změn PVM u SHR samic

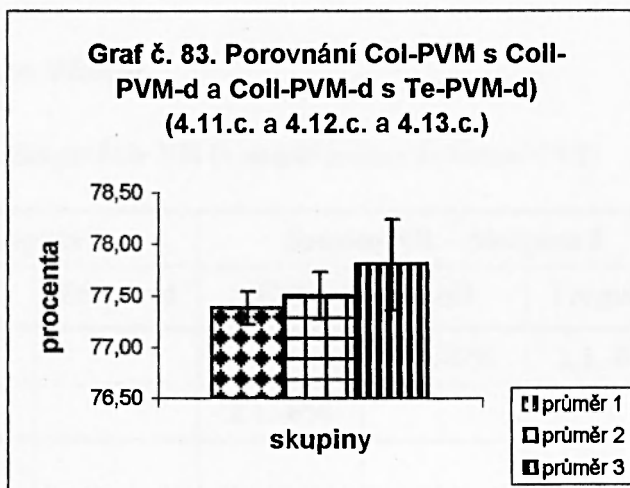
věk (měsíce)	Samice SHR – Skupina 4					
	CoI v porovnání s CoH skupinou			CoII v porovnání s Te skupinou		
	doživší	nedoživší	úmrtnost CoII	doživší	nedoživší	úmrtnost Te
2. pásno	↓	↑***	50%	-	-	-
	↓	↑***	21%	↑	↑	38%
3. pásno	↑***	↑	38%	-	-	-
	↓	-	13%	↓	-	25%
	↑	↑	33%	↑	-	0%
	↑	-	25%	-	-	-

Porovnání Col-PVM s Coll-PVM-d a Coll-PVM-d s Te-PVM-d
(4.11.c. a 4.12.c. a 4.13.c.), (n=6/7/6)

podíl vody/%	
průměr 1	77,38
průodch	0,13
smodch	0,16

podíl vody/%	
průměr 2	77,50
průodch	0,19
smodch	0,23

podíl vody/%	
průměr 3	77,80
průodch	0,37
smodch	0,44



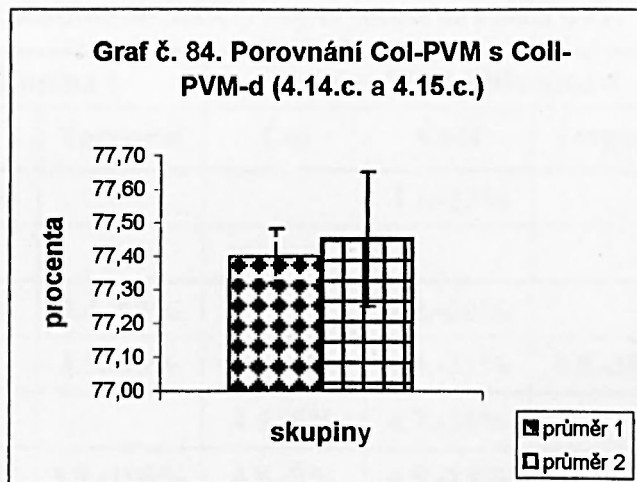
Při porovnání sledovaných hodnot vykázala Coli skupina doživších zvířat větší podíl vody v mozku než Col skupina. Te skupina doživších zvířat vykázala větší hodnoty než Coli skupina doživších zvířat. Rozdíly mezi skupinami nebyly statisticky významné. Podobný obraz jsme také našli u skupin znázorněných v grafu č. 58 , 59 , 62, 67, 70 , 72 , 75 a 81.

Páté pásmo:

Porovnání Col-PVM s Coll-PVM-d
(4.14.c. a 4.15.c.), (n=7/6)

podíl vody/%	
průměr 1	77,40
průodch	0,06
smodch	0,08

podíl vody/%	
průměr 2	77,45
průodch	0,17
smodch	0,20



Při porovnání těchto dvou skupin vykázala Coli skupina větší podíl vody v mozku než Col skupina. Rozdíl hodnot však nebyl statisticky významný.

4.3.1. Úmrtnost zvířat

4.3.1.1. Úmrtnost zvířat kmene Wistar

Tabulka č. 15: Úmrtnost v dílčích skupinách-NR (v období pokusu do konání GTT)

věk (měsíce)	Samci NR – Skupina 1			Samice NR – Skupina 2		
	CoI	CoII	Tergurid	CoI	CoII	Tergurid
4					2.2.-0%	2.3.-0%
4,5				2.1.-0%		
5	1.1.-0%					
6		1.2.-81%		2.4.-0%	2.5.-52%	2.6.-50%
7	1.3.-0%	1.4.-60%				
8		1.5.-50%	1.6.-38%	2.7.-0%	2.8.-38%	2.9.-43%
9	1.7.-0%	1.8.-73%				
10			1.9.-63%			

4.3.1.2. Úmrtnost zvířat Koletského typu

Tabulka č. 16: Úmrtnost v dílčích skupinách-SHR (v období pokusu do konání GTT)

věk (měsíce)	Samci SHR – Skupina 3			Samice SHR – Skupina 4		
	CoI	CoII	Tergurid	CoI	CoII	Tergurid
4		3.1.-60%			4.1.-33%	
4,5						
5	3.2.-0%	3.3.-75%	3.4.-63%		4.2.-50%	
6			3.5.-38%	4.3.-0%	4.4.-21%	4.5.-38%
6,5				4.6.-0%	4.7.-38%	
7	3.6.-0%	3.7.-54%	3.8.-100%	4.8.-0%	4.9.-13%	4.10.-25%
8			3.9.-83%	4.11.-0%	4.12.-33%	4.13.-0%
9						
10						
10,5				4.14.-0%		
11					4.15.-25%	

5. Diskuse

Jak již bylo výše uvedeno, jako experimentální model byl zvolen laboratorní potkan. Je známo, že z hlediska existence anatomického antropomorfismu mají s člověkem nejvíce podobnou anatomii i klinické a morfologické projevy vlastního poškození mozku primáti. (Kozler 2002) Do roku 1995 se jako zvířecí model poškození mozku využívali ještě zástupci vyšší druhů jako např.: ovce, kočky nebo primáti; většina recentních studií již používá hlodavce. (Faden 2002) Z hlediska efektivnosti a dostupnosti jsou hlodavci nejlepším kompromisem. Kočky a králíci jsou sice rovněž levnější než primáti, ale i zde přetrvávají nevýhody velkého mozku jako u primátů, což je vyloučení rychlé fixace mozku a použití velkého množství drahých indikačních látek. Na druhé straně použití hlodavců přináší také některá úskalí, jako je častější výskyt křečí, poruch dýchání a vědomí po ischemickém poškození. Malá velikost myši a pískomilů znemožňuje fyziologické monitorování, protože je prakticky nemožná trvalá kanylace cév. Přesto výhody, které poskytuje použití hlodavců, převažují nad uvedenými nevýhodami. Malá velikost mozku umožňuje rychlou fixaci a snižuje spotřebu fixačních látek. Kompromisní a nejčastěji užívaný je model na potkanech. (Kozler 2002) My jsme použili zvířata kmene Wistar a zvířata Koletského typu (oba kmeny jsme popsali v kapitole 4.1.1.). První kmen zvířat je kmen normoglykemický, po navození hypoxie mozku je modelem poruchy tolerance glycidů, která nastává u normoglykemického jedince.

Cévní mozková příhoda u člověka je přesně definovaná nosologická jednotka, která ale u každého jednotlivce přináší řadu odlišností. Patří sem různá patogeneze, odlišná klinická manifestace, postižená anatomická struktura a především celkový stav základní probíhající choroby. S tím dále souvisí věk pacienta (proto naše třídění na jednotlivá věková pásma), interní onemocnění srdce a plic, diabetes apod.. Devadesát pět procent ischemických iktů, postihuje starší a nemocné jedince s polymorbititou. Na druhé straně prakticky všechny experimentální modely probíhají za přísně kontrolovaných fyziologických podmínek na mladých a zdravých laboratorních zvířatech, či geneticky inbredních zvířatech, zpravidla pouze jednoho pohlaví. Naskytá se tak otázka použitelnosti výsledků pozorování zvířecích modelů v humánní praxi. (Millikan 1992, Faden 2002)

Tuto druhou skupinu (jedinců nikoliv zdravých) zastupují v našich experimentech zvířata Koletského typu, která jsou geneticky hypertenzivní, s metabolickými a hormonálními abnormalitami, a která se stávají po navození ischemie mozku rovněž modelem intolerance glycidů, ale již na geneticky hyperglykemickém

základu. Zkoumání ischemických změn mozku u tohoto kmene zvířat, konkrétně u starších jedinců s prohloubenými abnormalitami (neboť s přibývajícím věkem bylo pozorováno zhoršení těchto abnormalit, Koletsky 1972 a 1975) by jistě přineslo rozšíření pohledu v této problematice.

Cévní ischemická mozková příhoda má v průmyslově vyspělých zemích incidenci 250-400/100 000 s mortalitou kolem 30% a představuje třetí nejčastější příčinu smrti (Dirnagl a kol. 1999). Podle specifických výpočtů, vzhledem k vzrůstajícímu procentu starších osob v populaci, se předpokládá, že se celkový počet pacientů v USA s cévní mozkovou příhodou zvýší, a to z 200.000 (2002) na 1136.000 (2025). U většiny těchto pacientů (85-90%) je příčina ischemie mozku mozková arteriální trombose. (Wu 2005) Tato skutečnost vysvětluje, proč je výzkumu v oblasti ischemie mozku věnována celosvětově velká pozornost. Při vytváření modelu intolerance glycidů jsme vycházeli z předpokladu, že již od doby Claude Bernarda je známo, že poškození mozku vyvolává hyperglykémii. Sledovali jsme tedy jednu z proměnných kaskády biochemických změn, kterými je ischemická fáze definována. Na základě studia literatury byl sestaven model intolerance glukosy, který jsme uplatnili u zvířat kmene Wistar a zvířat Koletského typu ve všech experimentech, jejichž výsledky uvádíme v této práci, ale i v dalších pokusech navazujících na tato data. V experimentálních podmínkách jsou užívány jednak modely globální ischemie a za druhé modely fokální ischemie. Náš zvolený model oboustranné okluze a. carotis communis je jedním z modelů globální ischemie využívaný u pískomilů a potkanů. (Allen 1994, Usuda a kol. 1996, Lin a kol. 1998, Lin a kol. 2000, Li a kol. 2001, Ding a kol. 2004) K dalším modelům globální ischemie patří jednostranná okluze a. carotis communis, dále oboustranná okluze a. carotis communis a zároveň uzavření aa. vertebrales koagulací v oblasti foramen C1, dalšími modely jsou dekapitační ischemie, turniketová ischemie, kompresivní ischemie a hypoxická ischemie. (Islam a kol. 1998, Kozler 2002) Ve všech případech je základní podmínkou úspěšného experimentu šetrná preparace a. carotis communis, neboť tato artérie se nachází ve společné vazivové pochvě s n. vagus. Jakékoliv poranění nervu během separace výrazně zvyšuje mortalitu, která je sama o sobě vysoká, viz níže.

Nejlepší z experimentálních modelových simulací ischemického iktu u člověka představuje patrně jedna z metod fokální ischemie, kdy je prováděna okluze a. cerebri media. Bohužel tato metoda je velice instrumentálně (operační mikroskop, mikroinstrumentarium včetně vysokorychlostní vzduchové vrtačky, bipolární

koagulace) a časově (celá procedura trvá kolem tří hodin) náročná. (Tamura a kol. 2002) Na rozdíl od modelů globální ischemie vzniká u této metody strukturovaná léze – včetně penumbrální oblasti, ke které se v současné době upínají největší terapeutické naděje, neboť právě zachránění vitality buněk této oblasti vede k snížení mortality a morbidit. (Anderson a kol. 1999, Nagi a kol. 1999, Phan a kol. 2002, Ginsberg 2002, Li a kol. 2005, Molina, Saver 2005)

Rovněž i doba trvání ischemie mozku navozená u těchto experimentálních modelů se u jednotlivých autorů liší. Rozdíly časového trvání ischemie jsou značné. Nalezli jsme tyto údaje: 2,5 , 4, 5, 8, 12, 10, 15, 20, 30, 60, 240 minutové období ischemie, které je následováno u jednotlivých autorů různě dlouhou periodou reperfuse. Podrobnosti jsou uvedeny v teoretické části práce a tyto údaje byly již publikovány (Kudláčková a Hronek - a, 2001). Z této škály byl vybrán 4 hodinový bilaterální uzávěr a. carotis communis s následnou 44 hodinovou reperfusní fází (Usuda a kol. 1996, Kawai a kol. 1999, Anderson a kol. 1999), neboť toto modelové poškození navozuje vznik intolerance glukosy, kdy hodnota glykémie dosahuje nad 11,1 mmol/l. (Rovlias a kol. 2000) Tato hladina je u pacientů s těžkým kranio cerebrálním zraněním spojována s horší neurologickou prognosou.

Dávkování terguridu bylo stanoveno na základě porovnání účinnosti v oblasti, pro kterou byl tento lék vyvinut, tj. k léčbě prolaktinémie. (Dallabonzana a kol. 1985, Mizokawa a kol. 1993, Martignoni a kol. 1996) Dále se tento lék využívá v terapii akromegálie (Graf 1987, Dallabonzana a kol. 1986), parkinsonismu (Riederer 1986, Akai a kol. 1995), patologicky zvýšené sekrece růstového hormonu (Dallabonzana a kol. 1985), u schizofrenie s negativní symptomatologií. (Olbrich, Schanz 1988, Olbrich, Schanz 1991) Dávka byla stanovena na základě účinku terguridu na hladinu prolaktinu u laboratorních potkanů. Bylo potvrzeno, že účinná dávka činí 0,1 mg/kg hmotnosti. (Golda 1998 a) Tergurid byl aplikován intraperitoneálně, podle literatury. (Lange a kol. 1992, Pulvirenti a kol. 1998)

Při posuzování vlivu ischemie mozku na hladinu krevní glukosy jsme v první části zjišťovali, zda-li nalezneme rozdíly mezi nárůstem glykémie mezi jednotlivými kmeny zvířat, v další části pak mezi samicemi a samci uvnitř jednotlivých kmenů a nakonec, zda-li se objeví odlišnosti v rámci věkového třídění zvířat.

V kapitole 4.3.1.1. jsou uvedeny přehledně všechny výsledky tohoto šetření. Ve všech případech u samců kmene Wistar došlo k statisticky významné změně AUC glykemické křivky ve smyslu zvýšení (graf č. 2, č. 4, č. 6). Stejný obraz nalezneme

i u samic kmene Wistar (graf č. 8, č. 10, č. 12). Statisticky významně větší AUC nalezneme i u samců Koletského typu (graf č. 14 a č. 16) a totéž i u samic Koletského typu (graf č. 18, č. 20, č. 22, č. 24 a č. 26).

Masivní hyperglykémie byla navozena tedy v obou sledovaných kmenech zvířat, u obou pohlaví a ve všech sledovaných pásmech. Tyto výsledky jsou také přehledně znázorněny v tab. č. 5 a č. 6.

Zaměříme-li se na konkrétnější změny, nejsou nálezy již tak jednotné. Při sledování vlivu ischémie na změny basální glykémie jsme našli tato data. Zaměříme-li se nejprve na samce kmene Wistar, pak ze tří sledovaných skupin prostřední skupina vykazuje statisticky významnou změnu basální glykémie, zatímco dvě zbývající nikoliv (graf č. 1, č. 3, č. 5). U samic téhož kmene nacházíme opačný obraz, kde pouze prostřední skupina nevykazuje statisticky významný rozdíl mezi hodnotami basální glykémie (graf č. 7, č. 9, č. 11).

U kmene Koletského typu nacházíme jednodušší obraz těchto změn. Pouze v jednom případě, u samic tohoto kmene jsme našli statisticky významný rozdíl mezi hodnotami basální glykémie, (graf č. 17). V ostatních případech nebyl ani u samců ani u samic nalezen statisticky významný rozdíl mezi hodnotami basální glykémie (graf č. 13, č. 15, č. 19, č. 21, č. 23 a č. 25). Souborný přehled těchto nálezů ukazuje tab. č. 6.

Z těchto nálezů vyplývá, že vliv ischémie mozku na změnu basální glykémie u sledovaných zvířat má kmenovou závislost.

Hodnota basální glykémie u kmene Wistar byla u Coll skupiny vyšší oproti Col skupině. I když zde nebyla prokázána statistická významnost jsou rozdíly hodnot natolik patrné, že považujeme za důležité tento fakt zde alespoň zmínit. Naopak u zvířat Koletského typu nalezneme v několika případech, rovněž bez statistické významnosti, basální glykémii u Coll skupiny nižší, a to u samců ve druhém pásmu, viz graf č. 13, u samic ve druhém pásmu, viz graf č. 17 a ve třetím pásmu, viz graf č. 19, č. 23. Což opět ukazuje na kmenové odlišnosti ve změnách basální glykémie v souvislosti s ischémií mozku.

Při pohledu na tyto výsledky, z hlediska rozdělení zvířat do jednotlivých pásem, nebyla nalezena statisticky významná změna basální glykémie ve druhém pásmu u samců a samic kmene Wistar a rovněž nebyla nalezena ve třetím pásmu u samců a samic kmene Koletského typu. Souborný přehled změn basální glykémie přináší tab. č. 5 a 6.

Znázornění změn glykemické křivky v průběhu glukosového tolerančního testu u Coll skupiny nám ukázalo, že u všech skupin samců kmene Wistar byla nalezena statistická významnost ve 120. a 180. minutě odběru. U samic téhož kmene jsme u všech skupin našli statistickou významnost v 60. minutě odběru. U samců Koletského typu jsme statistickou významnost našli v 60. minutě (pouze dvě skupiny). U samic téhož kmene pak ve 120. minutě a kromě jedné z pěti skupin také v 60. minutě. U všech zvířat obou kmenů se maximální hodnota glykémie objevila v 60. minutě odběru. Změny glykemické křivky u zvířat kmene Wistar jsou souborně uvedeny v přehledu, viz tab. č. 3. Změny glykemické křivky zvířat Koletského typu jsou uvedeny přehledně, viz tab. č. 4.

Když jsme porovnali zvířata ve věkových pásmech tam, kde jsou zastoupeny oba kmeny ve všech třech experimentálních skupinách: Col, Coll a Te zjistili jsme, že nejmasivnější nárůst glykémie je patrný u samců kmene Wistar (o $43,66 \pm 14,57\%$), který je spojen s vysokou úmrtností (66%). U samic tohoto kmene byl nárůst glykémie, zapříčiněný ischemií mozku, nižší než u samců (o $28,66 \pm 1,41\%$) a byl spojen také s nižší úmrtností (45%). U samců kmene Koletského typu jsme našli nižší nárůst glykémie než u samců kmene Wistar (o $36 \pm 7,07\%$) spojený s vyšší úmrtností než u samic téhož kmene (65%). U samic Koletského typu byl také jako u samic kmene Wistar nárůst glykémie nižší (o $25 \pm 5,75\%$) spojený také s nižší úmrtností než u samců Koletského typu (31%). Tyto nálezy korespondují s pozorováním Bramlett, Dietrich 2001, kteří zjistili, že pohlavní rozdíly mají signifikantní vliv na následky traumatického poškození mozku. Intaktní samice potkanů ukazovali statisticky významně menší objem lézí než ovariectomizované samice nebo samci.

Z těchto údajů vyplývá, že změny intolerance glykémie nejsou závislé pouze kmenově, ale že zde můžeme vystopovat i závislost na pohlaví.

Při porovnávání těchto procentuálních změn jsme našli nejvyšší úmrtnost u zvířat obou kmenů, jak u samců tak u samic, ve druhém pásmu (5-6 měsíc). Hladiny úmrtnosti uvádíme v souborných tabulkách č. 15 a č. 16.

Také klinické práce ukazují, že hyperglykémie provázející akutní poškození mozku koreluje s expanzí infarktu, brzkým úmrtím a horšími klinickými následky. (Kudláčková a Hronek - b, 2001, Baird a kol. 2003)

Shromážděné publikace uvedené v teoretické části práce potvrzují, že hyperglykémie má zhoršující vliv na ischemicky poškozenou nervovou tkáň.

Ischemizovaná hyperglykemická zvířata ve srovnání s ischemizovanými normoglykemickými zvířaty měla prokazatelně větší poškození těchto oblastí: putamen, sektor CA 1 hippocampu, substantia nigra pars reticularis, neocortex, thalamus, globus pallidus, kůra parietálního laloku, cerebellum, nucleus caudatus, gyrus temporalis superior, gyrus cinguli. (Li a kol. 1996, Warner a kol. 1995, Usuda a kol. 1996, Sieber a kol. 1996, Lungren a kol. 1991, Lin a kol. 1998)

Při sledování účinku terguridu na intoleranci glukosy navozenou ischemií mozku jsme našli tyto výsledky:

U kmene Wistar jsme našli nižší součet AUC glykemické křivky u Te skupiny oproti součtu AUC u CoII skupiny u obou pohlaví a ve všech sledovaných pásmech, (graf č. 28, č. 31, č. 34, č. 37 a č. 39). Tergurid tedy snížil hladinu krevní glukosy oproti skupině bez terguridové terapie. Toto snížení bylo u samců (graf č. 28 a č. 31) statisticky významné na hladině $P < 0,05$. U samic bylo nalezeno statisticky významné snížení na hladině $P < 0,05$ (graf č. 39) a na hladině $P < 0,01$ (graf č. 34). Statisticky významné snížení hladiny glykémie nebylo prokázáno u zvířat zobrazených v grafu č. 37, neboť zde z 12 zvířat přežila pouze 2 zvířata.

Při porovnání procentuálního snížení součtu AUC glykemické křivky u Te skupiny s CoII skupinou jsme u samců kmene Wistar zjistili, že součet AUC Te skupiny je průměrně o $42,32 \pm 11,67\%$ nižší než součet AUC CoII skupiny. Samice kmene Wistar z Te skupiny vykazaly AUC o $24,16 \pm 4,55\%$ nižší než samice CoII skupiny.

Při porovnání změn glykemických křivek glukosového tolerančního testu jsme našli rozdíly, které opět ukazují na pohlavní závislosti v rámci jednoho kmene. Zatímco u samců kmene Wistar jsme zjistili statisticky významnou změnu basální glykémie u Te skupiny oproti CoII skupině, pak u samic téhož kmene jsme tuto statisticky významnou změnu nenalezli, přestože ve všech případech (jak u samců tak i u samic) byla sledována basální glykémie u Te skupiny nižší než u CoII skupiny (viz tab. 7 a tab. 8).

Maximální glykémie bylo dosaženo v 60. minutě odběru. V tomto čase byla nalezena u samců statisticky významná změna ($P < 0,05$). Zatímco u samic byla v tomto čase nalezena statisticky významná změna pouze u jedné skupiny ($P < 0,05$). (viz tab. č. 7)

Další zajímavé nálezy se objevily po porovnání Te skupiny s Col skupinou. Rozdíly mezi součtem AUC obou skupin nejsou výrazné (graf č. 29, č. 32, č. 35, č. 40). U samců Te skupiny je součet AUC průměrně o $2,75 \pm 1,97\%$ nižší než u Col skupiny a statistická významnost mezi hodnotami nebyla prokázána. **Tergurid je tedy s to u samců kmene Wistar přiblížit hladiny glykémie zvířat podrobených ischemii mozku hladinám glykémie intaktních zvířat.** U samic téhož kmene při porovnání Te skupiny s Col skupinou jsme našli poněkud odlišný obraz. Pouze v jednom případě byl součet AUC Te skupiny nižší (o 4%) než součet AUC Col skupiny. Ve zbývajících dvou případech byl součet AUC u Te skupiny vyšší než součet AUC u Col skupiny a to $11+0\%$. I tyto nálezy potvrzují pohlavní rozdíly ve vztahu ke změnám glykémie.

Při sledování vlivu terguridu na intoleranci glycidů u zvířat kmene Koletského typu jsme našli tyto výsledky:

Součet AUC u všech skupin (kromě jedné skupiny samic, graf č. 51) byl u Te skupin oproti ColI skupinám snížen (graf č. 42, č. 45, č. 48, č. 53, č. 56). V průměru toto snížení činilo u samců $26,07 \pm 6,43\%$, kdežto u samic byl součet AUC Te skupiny nižší o $20,65 \pm 2,13\%$ než součet AUC ColI skupiny. U samců Koletského kmene bylo tedy snížení větší než tomu bylo u samic tohoto kmene, podobně jako tomu bylo i u kmene Wistar, avšak u samců kmene Wistar bylo snížení přibližně o $16,25\%$ větší. Mezi samicemi ColI a Te skupiny nebyl nalezen takový rozdíl. U samic kmene Wistar bylo snížení o $3,51\%$ větší než u samic Koletského typu. Avšak na rozdíl od kmene Wistar statistická významnost snížení glykémie při terapii terguridem byla nalezena nikoliv u samců, ale u samic Koletského typu, kde součet AUC Te skupiny byl statisticky významně nižší ($P < 0,05$) než součet AUC ColI skupiny (viz graf č. 53, č. 56). Je tu tedy opět patrný pohlavní rozdíl ve vztahu se změnou glykémie a v porovnání s předchozím kmenem i rozdíl kmenový.

Na rozdíl od kmene Wistar nenastala statisticky významná změna v basální glykémii ani u samců ani u samic Koletského typu (tab. č. 9). A zatímco basální glykémie byla u všech Te skupin kmene Wistar nižší než u zvířat ColI skupin, pak u Koletského typu byla u Te skupin samic basální glykémie vyšší než u ColI (byť nepatrně) a u samců rovněž v jednom případě vyšší a pouze ve dvou případech nižší než u ColI skupin (graf č. 44, č. 47).

Maximální glykémie bylo dosaženo v 60. minutě odběru. V tomto čase byla nalezena u samic statisticky významná změna u dvou skupin ($P < 0,05$ a $P < 0,01$).

Zatímco u samců nebyla v tomto čase nalezena statisticky významná změna. (viz tab. č. 9)

Při porovnání Col skupin a Te skupin jsme zjistili, že součty AUC Te skupin jsou ve všech případech (jak u samců, tak i u samic) vyšší než součty AUC u Col skupin. Ani v jednom případě však rozdíl hodnot nebyl statisticky významný. V případě samců byla AUC u Te skupiny o $11,19 \pm 1,32\%$ větší než u Col. V případě samic byla suma AUC o $14,33 \pm 7,76\%$ větší než u Col skupin.

Na rozdíl od kmene Wistar, u zvířat Koletského typu s ischemií mozku není schopen tergurid přiblížit hladiny krevní glukosy hladinám glykémie u intaktních zvířat.

Během posuzování změn podílu vody v mozku jsme našli tyto změny: Tak jak jsme předpokládali, v souladu s literaturou (viz kapitola 3.3.1.5. a 3.3.1.6.), nastalo to, že ischemie mozku způsobila nárůst podílu vody v mozku (dále jen PVM) ve všech pásmech u potkanů-samců kmene Wistar (graf č. 58, č. 59, č. 62). Ve druhém a ve třetím pásmu byl nalezen statisticky významně ($P < 0,01$) větší PVM u nedoživších zvířat u ColII skupiny oproti Col skupině doživších zvířat. U samic téhož kmene jsme rovněž ve druhém a ve třetím pásmu našli větší podíl vody v mozku u ColII skupiny, rozdíly hodnot však nebyly statisticky významné. V prvním pásmu u samic tohoto kmene se objevila statisticky významně ($P < 0,05$) menší hodnota PVM u ColII skupině (graf č.65). Tato zvířata, ve stáří 4-4,5 měsíců, vykazovala také naprosto odlišnou reakci na ischemii mozku v přežití, neboť jak ColII tak i Te skupina vykazovala 0% úmrtnost.

U samců Koletského typu způsobila ischemie mozku rovněž ve druhém a ve třetím pásmu nárůst PVM u ColII skupiny, kde nedoživší zvířata ColII skupin vykazovala statisticky významně ($P < 0,001$) vyšší PVM oproti doživším zvířatům Col skupin (graf č. 72, č. 75). U samic tohoto kmene navodila ischemie mozku rovněž ve druhém, ve třetím a v čtvrtém pásmu zvýšení podílu vody v mozku u ColII skupin. Ve druhém pásmu byl rozdíl mezi PVM u nedoživších zvířat ColII a doživších zvířat Col skupiny statisticky významný ($P < 0,001$)(graf č. 78 a č. 79). Ve třetím pásmu byl PVM u doživších zvířat ColII skupiny statisticky významně ($P < 0,001$) větší než u Col skupiny (graf č. 81). Nedoživší zvířata ColII skupiny vykazovala rovněž vyšší PVM, než zvířata Col skupiny, podobně jako ve druhém pásmu, nikoliv však statisticky významně. Tentýž obraz jsme našli i ve čtvrtém pásmu, kde doživší zvířata ColII skupiny vykazovala vyšší PVM než Col skupina, také bez statisticky významného rozdílu. Pouze

u jedné skupiny samic Koletského typu byl nalezen PVM u Coll skupiny nižší než u Col skupiny (graf č. 82).

Při porovnávání Coll skupin a Te skupin jsme zjistili, že pouze u samců kmene Wistar došlo ve čtvrtém pásmu u terapie terguridem ke statisticky významnému ($P < 0,05$) snížení PVM u Te skupiny oproti Coll skupině zvířat (graf č. 63). Ve třetím pásmu u těchto samců byl PVM u doživších zvířat Te skupiny statisticky významně ($P < 0,001$) vyšší než PVM u Coll doživších zvířat. Avšak při porovnání nedoživších zvířat Coll skupiny s doživšími zvířaty Te skupiny, byla shledán PVM u Te skupiny nižší, nikoliv však statisticky významně (graf a č. 61). U Coll skupin samců tohoto kmene došlo k největšímu nárůstu glykémie a největší úmrtnosti, ve srovnání s ostatními zvířaty obou kmenů a obou pohlaví a rovněž suma AUC glykemické křivky byla statisticky významně nižší u Te skupiny, což koresponduje s nálezy PVM v těchto skupinách zvířat.

U samic tohoto kmene nastalo snížení PVM u Te skupiny v porovnání s Coll skupinou pouze v prvním pásmu, nikoliv však statisticky významně (graf č. 66). Ve druhém a ve třetím pásmu se naopak objevilo zvýšení PVM u Te skupin oproti Coll skupinám. Zde tergurid vykázal zhoršující vliv (graf č. 68, č. 69, č. 71).

U samců Koletského typu jsme ve druhém pásmu a ve třetím pásmu našli snížení PVM u Te skupin oproti Coll skupinám, rozdíl hodnot nebyl statisticky významný (graf č. 73, č. 74, č. 77). V jedné ze dvou skupin třetího pásma, byla úmrtnost zvířat 100% a zde jsme také prokázali zvýšení PVM u nedoživších zvířat skupiny s aplikovaným terguridem, kde rozdíl hodnot PVM mezi Coll skupinou doživších zvířat a Te skupinou nedoživších zvířat byl statisticky významný ($P < 0,001$).

Při porovnání výsledků podílu vody v mozku u samic Koletského kmene u dvou skupin našli snížení podílu vody v mozku a u dvou skupin zvýšení PVM. Rozdíly hodnot nebyly ani v jednom případě statisticky významné. Ve druhém pásmu došlo ke zvýšení hodnot. Ve třetím pásmu (graf č. 82) došlo ke snížení a rovněž ve třetím pásmu (graf č. 83) ke zvýšení PVM u Te skupiny.

Z popsaných nálezů změn PVM můžeme shrnout tato fakta. U 14 pokusných skupin způsobila ischemie mozku zvýšení PVM u Coll skupin. Pouze v jedné skupině samic kmene Wistar a v jedné skupině samic Koletského typu nikoliv.

Z jedenácti skupin snížil tergurid PVM u 5 skupin, ale pouze u samců kmene Wistar statisticky významně. Data u jednotlivých skupin jsou ovlivněna vysokou úmrtností zvířat, kdy z původní skupiny přežívá natolik málo zvířat, aby tyto nálezy mohli být statisticky významné.

U zbývajících 6 skupin je patrné zvýšení PVM u Te skupin oproti ColI skupině. **Účinek ischémie mozku na obsah vody v mozku a následující účinek terguridu zůstává i nadále otevřenou otázkou.**

Přestože metoda stanovení poměru suché hmotnosti parenchymu k obsahu vody je metodou standardní (Kalvach a kol. 1997, Kozler 2002), bylo by vhodné, vzhledem k tomu, že skupiny zvířat jsou velmi nehomogenní (čas úhynu se u jednotlivých zvířat naprosto liší), analyzovat jednotlivá zvířata samostatně a použít ještě další vyhodnocovací postupy. Zejména pak elektronovou mikroskopií, která by umožnila analýzu změn neuronů a především iniciálních strukturálních změn, tedy zduření mitochondrií a rovněž změny satelitních oligodendroglíí i astrocytů, které za akutní ischémie reagují velmi rychle, neboť jejich pseudopodie obklopující těla neuronů i stěny kapilár, nasávají vodu a jejich objem může být i trojnásobný. Těmito analýzami by bylo možné lépe objasnit vliv terguridu na změny podílu vody v mozku i v jejich jemných nuancích. Lze předpokládat, že bychom našli podobné změny jako v experimentech se stejnou modelovou situací oboustranného uzávěru a. carotis communis, kde u ischemizovaných hyperglykemických zvířat našel Lin a kol. 1998 a Usuda a kol. 1996 závažné změny vypovídající o probíhajícím ischemickém edému, který je kombinací vasogenního a cytotoxického edému. V současné době se rovněž užívá k detekci a kvantifikaci edémové tekutiny metoda magnetické rezonance (MRI), která nahrazuje gravimetrii a metody měření objemu vody u laboratorního potkana i pískomilů. (Kozler 2002) Tato metoda byla ovšem pro naše podmínky finančně nedostupná.

Další problematikou, která se nabízí ke zkoumání jsou biochemické změny, které se rozvíjejí na základě ischemické léze a jsou zhoršovány hyperglykemií. Mozková buňka je striktně energeticky závislá pouze na kyslíku a glukose a při redukci krevního oběhu dochází zákonitě k energetickému selhání. Objevuje se ztráta membránového potenciálu, neurony a glie depolarizují. Následkem depolarizace nastává zvýšení koncentrace kalciových, natriových a chloridových iontů intracelulárně, zatímco extracelulárně se hromadí glutamát a kalium. Voda následuje intracelulárně natrium a vzniká intracelulární edém. Ten je v časovém průběhu ischemické léze

doplněn vasogenní komponentou. Perfúze glutamátu a kalia extracelulárním prostorem vede k dalšímu šíření depolarizace a zvětšování ischemické léze. Zvýšená intracelulární koncentrace kalcia generuje zvýšené uvolňování volných kyslíkových radikálů, které jsou příčinou dalších postischemických změn, jako jsou aktivace mikroglie, leukocytární infiltrace, apoptóza. (Dirnagl 1999, Klatzo 1994, Sugawara a kol. 2004, Tolias, Bullock 2004)

Bylo prokázáno, že hyperglykémie provázející ischemické poškození je spojována se zhoršením jednotlivých kroků biochemické kaskády změn uvedených výše. Jsou to např. pomalejší obnova sodíkové a kalciové homeostázy během časně recirkulace (Tyson a kol. 1996, Araki a kol. 1992, Ekholm a kol. 1995, Kagansky a kol. 2001), zvýšení extracelulárních hladin glutamátu (Guyot a kol. 2000, Li a kol. 2000), zvýšené uvolňování volných radikálů a zvýšená peroxidace lipidů (Siesjö a kol. 1996, Lungren a kol. 1991 b, Li a kol. 1999, Wei a kol. 1999, Wei a kol. 1997, Roh a kol. 1992, Lindsberg a kol. 2004), porušení hematoencefalické bariéry (Kawai a kol. 1998, Kawai a kol. 1999, Lindsberg a kol. 2004), zvýšené uvolňování cytochromu C, aktivace kaspázy-3 a kaspázy-9 vedoucí k programované smrti buněk (Li a kol. 2001 a,b, Ding a kol. 2004). Naskýtá se tedy otázka, jaké nastanou změny v těchto jevech během terapie terguridem.

Odpověď na otázku, jaké jsou příčiny kmenových a pohlavních rozdílů abnormalit glycidového metabolismu, jsme zjišťovali v dalších samostatně stojících šetřeních, kde jsme hledali **regulační mechanismy, které se podílejí na modifikaci glukosové intolerance**. Sledovali jsme **změny insulinémie a specificky vázaného insulinu**. Pokusy na **samicích kmene Wistar** ukázaly, že insulin vázaný na erytrocyty nebyl ischemií mozku ovlivněn. Dále, že **léčba terguridem vedla k poklesu insulinu vázaného na erytrocyty** a že ischemie mozku zvyšuje **insulinémii, která není snižována terguridem**.

Když jsme vzali v úvahu změny v insulinémii a ve vazbě insulinu ve tkáních jako účastníků regulačních mechanismů glukosové tolerance, naznačila nám tato fakta, že do těchto regulačních mechanismů glukosové tolerance může zasahovat více faktorů. (Golda, Hilgertová 1997 a,b,c) U potkanů a prasat byl na lumenální membráně endoteliálních buněk hematoencefalické bariéry zjištěn Na^+/D -glukózový kontraspórtér SGLT1. První den po přechodné okluzi a. cerebri media byla v obou hemisférách potkana nalezena mRNA SGLT1. Rovněž v primární tkáňové kultuře kapilárních endotelových buněk prasat byl tento kontraspórtér potvrzen. Tato data

naznačují, že na transportu D-glukózy přes hematoencefalickou bariéru se podílí SGLT1, a že během ischemie a reperfuze dochází k jeho změnám. (Elfeber a kol. 2004) Zovein a kol. zjistili při zkoumání účinku hypoxické ischemie na myši mozek zvýšení GLUT3 (neuronální isoforma) a to po 4 hodinách reoxygenace. Ke změně GLUT1 (gliální isoforma a isoforma hematoencefalické bariéry) nedošlo. Po 24 hodinách reoxygenace zvýšení GLUT3 zmizelo. Přechodné zvýšení GLUT3 v kritické době, mělo ochraňovat mozkovou tkáň před poklesem vychytávání glukózy. Tyto kompenzační změny podporující dodávku glukózy a tím buněčný energetický metabolismus, mohou zdržet procesy apoptózy a buněčné nekrózy. (Zovein a kol. 2004) Zůstává otázkou zda-li tergurid nezasahuje také do těchto regulačních mechanismů.

Další nálezy potvrzují, že existuje **korelace mezi glycidovým a lipidovým metabolismem. U obézních potkanů Koletského typu i u jejich štíhlých sourozenců tergurid zmenšuje insulinémii ve všech skupinách potkanů. Zvětšuje také vazbu insulinu na erytrocyty ve všech skupinách, kromě obézních samic. Na druhé straně tergurid zvyšuje plazmatickou koncentraci triglyceridů u obézních samců Koletského typu.** Závislost mezi basální glykemií a insulinem vázaným na erytrocyty i mezi triglyceridy a insulinémií, která byla nalezena u kontrolních štíhlých samců Koletského typu, chybí u léčby terguridem. Stejně tak nalezená korelace mezi triglyceridy a insulinémií, glukosovou tolerancí a insulinémií, plazmatickými triglyceridy a basální glykemií chybí při léčbě terguridem u štíhlých samic Koletského typu. U léčby terguridem se zde objevil vztah mezi insulinem vázajícím se na erytrocyty a basální glykemií. Když byla porovnána kontrolní a terguridová zvířata, objevily se u obézních samců Koletského typu opačné změny korelací. Zatímco u kontrol byla zjištěna pouze jedna korelace, tzn. korelace mezi glukosovou tolerancí a insulinem vázajícím se na erytrocyty, potom zde u léčby terguridem byla nalezena korelace tehdy, když se basální glykémie porovnávala versus insulin vázající se na erytrocyty nebo glukosová tolerance anebo triglyceridy. U obézních samic Koletského typu léčených terguridem se objevil rozdílný obraz. Korelace basální glykémie versus insulinémie nebo versus insulin vážící se na erythrocytech i korelace insulinu vážícího se na erythrocytech versus insulinémie je přítomna u kontrolních zvířat jako u terguridem léčených zvířat. V porovnání s kontrolními zvířaty léčenými terguridem pouze dvě korelace scházejí, tzn. glukosová tolerance versus insulinémie nebo versus insulin vážící se na erythrocyty. (Golda, Hilgertová 1998)

Když porovnáme vnitrodruhové rozdíly v účinku dlouhodobé léčby terguridem, nachází se **nejvíce vyjádřený ambivalentní efekt u glukosové tolerance a u plazmatických triglyceridů**. Zmíněný efekt léčby terguridem, když byly vzaty v úvahu individuální skupiny zvířat, může být vysvětlen kmenovým nebo podkmenovým účinkem. Je evidentní pohlavní závislost ambivalentního účinku, který je více vyjádřen u samců, je-li vzata v úvahu glukosová tolerance, a u samic, jsou-li analyzovány hladiny plazmatických triglyceridů. **Čím významnější jsou hodnoty glukosové tolerance a plazmatických triglyceridů před léčením, tím je účinek dlouhodobé léčby terguridem větší a naopak.** (Golda 1998 b) V klinické studii vykazuje tergurid u pacientů trpících hyperlipidemií (spojenou s glukosovou intolerancí) rovněž ambivalentní vliv. Podávání terguridu vedlo ke zmírnění hyperlipidémie a glukosové intolerance jen u pacientů s hypertriglyceridemií a vysokou glukosovou intolerancí. Na druhou stranu, u pacientů se středně zvýšenými plazmatickými triglyceridy a se střední glukosovou intolerancí byla léčba terguridem bez odezvy nebo došlo ke zhoršení. (Golda, Cvak 1995)

U normotenzivních potkanů kmene Wistar je tergurid schopen velmi významně zvýšit plazmatický insulin. Když opomineme údaj, že tento nálezn je v souladu s ambivalentním principem léčby terguridem, pak zvýšený insulin naznačuje možný vztah k paralelnímu zvýšení plazmatických triglyceridů u zmíněných typů zvířat, neboť jak je všeobecně přijímáno, **insulin zvyšuje zásoby triglyceridů**. Zvýšený vstup glukosy do buněk tukové tkáně usnadňuje syntézu mastných kyselin a glycerolfosfátu, které řídí syntézu triglyceridů. Insulin rovněž inhibuje enzymy, které katalyzují rozpad triglyceridů. U dlouhodobé léčby terguridem mohou být za daných okolností **změny triglyceridů důsledkem primárních změn insulinémie**. Tato pracovní hypotéza je ve shodě s novou koncepcí role insulinu ve zvýšení zásob triglyceridů. Příčinný vztah mezi zvýšenou insulinémií a zvýšenou plazmatickou koncentrací triglyceridů musí být prověřen v dalších experimentech. Nicméně data získaná u normotenzivních potkanů obou pohlaví a u štíhlých samců Koletského typu naznačují, že **dlouhodobá léčba terguridem zvyšuje insulinémiu**. (Golda 1998 b)

Vlastní mechanismus účinku terguridu na vazbu insulinu na erythrocyty a adipocyty stále není znám. Námelové alkaloidy významně ovlivňují některé základní mechanismy buněčné membrány a mohou být užitečné pro kontrolní vliv terguridu na některé vlastnosti erythrocytární membrány. Užitečnost studií terguridového účinku na biomembránách u potkanů Koletského typu je zdůrazněn faktem, že tito potkani

vykazují biomembránové abnormality. (Golda, Hilgertová 1997 d) Další zkoumání na buněčné úrovni, především exprese receptorů, aktivity tyrozinkinázy i postreceptorového přenosu signálu by pomohlo objasnit kmenové rozdílnosti glukosové tolerance a plazmatických triglyceridů popisované výše. Byly prokázány poruchy insulinového receptoru spojené, kromě základních projevů insulinové rezistence, s poruchami lipogeneze, mající příčinu v mutacích genu pro insulinový receptor. (Hrnčiar 1995, Šeböková a kol. 1995)

Dalším z potencionálních regulačních mechanismů se jeví vliv $TNF\alpha$, který získal v poslední době mnoho pozornosti, neboť zapříčiňuje mnoho charakteristických rysů insulinové rezistence. $TNF\alpha$ inhibuje bezprostřední krok v aktivaci insulinového receptoru snížením receptorové autofosforylace a fosforylace tyrozinových zbytků insulinového receptorového substrátu (IRS-1). Tento inhibiční účinek je závislý na výskytu IRS-1 v intaktních buňkách různých tkání, protože IRS-1 je přeměňován na inhibitor aktivity PTK (protein tyrosine kinase). (Feinstein a kol. 1993, Hotamisligil a kol. 1994 a 1996) $TNF\alpha$ také stimuluje down-regulaci GLUT-4, redukuje transkripci genu pro GLUT-4, stimuluje p55 $TNF\alpha$ receptor a aktivuje sfingomyelinasu. (Skolnik, Marcusohn 1996, Stephens a kol. 1997, Peraldi a kol. 1996) Při zkoumání změn $TNF\alpha$ v různých tkáních potkanů Koletského typu byl $TNF\alpha$ významně zvýšen v tukové tkáni a v kosterní svalovině těchto zvířat, ve srovnání se zdravými subjekty. Toto zvýšení bylo doprovázeno inhibicí tyrozinkinázové aktivity insulinového receptoru v tukové tkáni těchto jedinců. (Hřebíček a kol. 1999)

Zkoumání těchto a dalších regulačních mechanismů glycidového a lipidového metabolismu umožní podrobnější poznání rozdílů a mechanismu účinků námelových alkaloidů a terguridu.

Tergurid není jedinou z látek testovanou úspěšně na zvířecích modelech ve snaze pozitivně ovlivnit akutní fázi ischemického poškození mozku.

Podle současných znalostí patofyziologických kaskád vývoje ischemického poškození mozku lze dělit farmakologickou léčbu na léčbu akutní fáze (zahájenou ve „farmakologickém okně“) a léčbu subakutní a chronické fáze, která trvá do obnovy mozkové autoregulace (přibližně tři týdny).

V léčbě akutní fáze stojí v popředí reperfuze léčba zaměřená na podávání trombolitik a antikoagulancií. (Kalvach a kol. 1997) Intravenózní podání rt-PA může být prospěšné v případě ischemie mozku tehdy, je-li terapie zahájena do 3 hodin od

objevení symptomů. (Lindsberg a kol. 2004) Nicméně trombolýza je spojována s výrazným zvýšením rizika symptomatického krvácení a možné neurotoxicity. Fibrinolytická aktivita rt-PA může způsobit i degradaci extracelulárních tkání a aktivaci MMPs (matrix metalloproteinases), což může vést k poškození mikrovaskulární integrity. Mnohé mechanismy rt-PA toxicity mohou být tedy způsobeny změnou endoteliálních funkcí a časným otevřením hematoencefalické bariéry. Otevření této bariéry během reperfuze je důležitým faktorem vedoucí ke zvýšené mortalitě. V experimentu na laboratorních potkaních kmene Wistar redukoval **inhibitor MMP BB-94** mortalitu spojenou s rt-PA terapií, byla-li léčba zahájena do 2 hodin od začátku ischemie. BB-94 je MMP širokospektrý inhibitor, který může inhibovat MMP-2, MMP-3 a MMP-9, potenciálně toxické metaloproteinázy působící na hematoencefalickou bariéru. (Pfefferkorn a kol. 2003)

Naproti tomu Yepes a kol. 2003 tvrdí, že otevření hematoencefalické bariéry během terapie t-PA není zprostředkováno MMP-9, ale LRP (LDL receptor-related protein), neboť toto otevření je blokováno antagonisty LRP.

V současné době mnoho autorů uvádí, že prospěšnost rekanalizace aplikací rt-PA snižuje časná hyperglykémie zvýšením hemoragické přeměny poškozené tkáně a horšími neurologickými následky po trombolytické terapii. Při trvání hyperglykémie jsou zvláště nediabetičtí pacienti ohroženi rizikem dalšího mozkového poškození zpožděním reperfuze ischemické penumbrální oblasti. (Bruno a kol. 2002, Alvarez-Sabin a kol. 2003, Lindsberg a kol. 2003 **a,b**, Lindsberg a kol. 2004, Bruno a kol. 2004, Ribo a kol. 2005) Aktuální trendy reperfuze doporučují použít spolu se zahájením fibrinolytické terapie vasoprotektivní látky. (Molina, Saver 2005)

Dále je farmakoterapie této fáze zaměřena na neuronální resuscitaci spojenou se stabilizací membrán s podáváním blokátorů kalciových kanálů, antagonistů receptorů endogenních excitačních aminokyselin (glutamátu a aspartátu), kreatinfosfátu. Podle skupiny expertů Americké kardiologické asociace a Národní iktové asociace, která vytvořila desetibodové zásady iniciální péče u pacientů s iktem stojí léčba hyperglykémie na třetím místě těchto zásad (na prvním místě nalezneme urgentní provedení CT-vyšetření mozku, na druhém pak léčbu vysokého krevního tlaku). (Kalvach a kol. 1997)

Nejvíce diskutovanou léčbou, která se užívá k léčbě iktů (léčba edému mozku) již od začátku 60. let, je terapie kortikoidy. Kortikoidy jsou používány v léčbě akutní ischemie mozku. Následkem ischemie mozku vzniká cytotoxický edém, který je

zapříčiněn membránovou dysfunkcí. Časná léčba kortikoidy může pomoci redukovat mozkový otok. Autoři studie Qizilbash a kol. 2004 zabývající se hodnocením významu léčby kortikoidy u 456 pacientů zjistili, že tato terapie neukazuje funkční zlepšení následků u přeživších pacientů. Mezi všemi sledovanými sedmi dílčími studii byla pozorována nejednotnost. Nálezy se shodovaly pouze ve zhoršení gastrointestinálního krvácení, vzniku infekcí, zhoršení hyperglykémie. V závěru autoři uvádějí, že v klinické praxi není stále ještě dost důkazů k hodnocení léčby kortikoidy akutní ischemie mozku. To potvrzuje i Mehta 2003. Experimenty na zvířatech sice potvrdily, že endogenní kortikoidy mají zhoršující vliv na postischemické následky, ale neuroprotektivní role inhibitorů kortikoidů nebyla u lidí reprodukována. V souvislosti s hyperglykemií kortikoidy ukazují pozitivní vliv jen u nedospělých jedinců, u kterých má předléčení nebo pouhazové podání protektivní účinky. Podání kortikoidů u dospělých vede ke zvýšení tkáňové glukózy a ke vzrůstu laktoacidózy, což negativně ovlivňuje neuronální poškození. (Schurr 2002, Rami a kol. 1998, Tuor 1997) V současné době, kdy farmakologický výzkum objevil tzv. lazaroidy (**tirilazad**; Maruki a kol. 1995, Kim a kol. 1996), a které už jsou zavedeny do klinické praxe, nejsou farmakologické firmy motivovány k realizaci rozsáhlé multicentrické dvojité slepé studii vedoucí k ověření účinnosti kortikoidů u iktů. Nyní probíhá pouze testování dexametasonu u pacientů s traumatickým poraněním mozku. Klinická studie se nachází ve třetí fázi (plánováno je 10 000 pacientů). (Tolias, Bullock 2004) Objevují se totiž další kandidáti skupiny lazaroidů, které mohou být vhodné pro akutní léčbu mozkové ischemie jako např.: **U-74389G** zmenšující mozkový edém a neuronální nekrózu stabilizací membránově vázaných proteinů. (Durmaz a kol. 2003) Je třeba ovšem zmínit, v souvislosti s tirilazadem, že existují protichůdné výsledky preklinických experimentů. Rovněž se objevuje pozdní podání léčiva (po uplynutí 3 hodin), tromboflebitis vedoucí k systémovému zánětlivému stavu, nepřírozená permeabilita hematoencefalické bariéry. Tyto nálezy vedou k závěrům, že v případě léčby tirilazadem může, u specifické skupiny pacientů, nastat zhoršení stavu. (Labiche, Rotta 2004)

V souvislosti s edémem mozku je také v současné době diskutována i léčba **manitolem**. Skupina autorů presentovala totiž unikátní případ akumulace manitolu v oblasti infarktu. (Maioriello a kol. 2002) Vztahy k terapii edému mozku nalezneme v práci Shimamura a kol. 2004, která se zabývá novou terapeutickou strategií v léčbě ischemie mozku zaměřenou na angiogenetickou a neuroprotektivní terapii. Autoři této studie využívají metody genetické transformace. Pro terapii využili vektor nesoucí gen

lidského **hepatocytárního růstového faktoru** (HGF). Tento vektor aplikovali injekčně do cerebrospinální tekutiny cisterna magna potkana. Po 24 hodinách od začátku ischemie mozku zjistili u potkanů s HGF statisticky významné snížení neurologického deficitu a stimulaci angiogeneze. U potkanů s HGF nebyl rovněž prokázán cerebrální edém ani stržení hematoencefalické bariéry.

Významnou a nadějnou neuroprotektivní perspektivou v terapii mozkové ischemie se jeví použití **anti-kaspázové** terapie. Mnoho studií potvrdilo aktivaci kaspáz během ischemicko-reperfuzního poškození mozku. Kaspázy se podílejí na zahájení a realizaci apoptózy a hrají centrální úlohu v neuronální smrti, která následuje po globální ischemii mozku. Dále bylo prokázáno, že kaspázy mají svůj vliv i v sekundární fázi infarktových změn, způsobují například expanzi infarktového ložiska, tedy přeměnu původně penumbrální oblasti v oblast infarktu. Základem terapie je využití genové konstrukce, kdy dochází k vytvoření vektoru vznikajícího fúzí endogenních anti-kaspázových molekul s proteinovou doménou HIV. Touto fúzí je zajištěn vznik částice, která úspěšně proniká přes hematoencefalickou bariéru. Anti-kaspázová terapie doposud úspěšně testovaná *in vitro* a *in vivo* přináší naději pro terapii nejen cerebrální ischemie, ale i akutních a chronických neurodegenerativních onemocnění jako je Parkinsonova a Huntingtonova choroba. (Phan a kol. 2002, Onténiente a kol. 2003) Dále se v experimentálních podmínkách objevuje použití neurotrofních látek **BDNF** (brain-derived neurotrophic factor) a **bFGF** (růstový faktor s mitogenní aktivitou a vasodilatačními účinky) (Wu 2005), podání **minocyclinu** (semisyntetické tetracyklinové antibiotikum) (Xu a kol. 2004), **VEGF** (vascular endothelial growth factor), látka s angiogenetickým, neurogenetickým, přímým neurotrofním, neuroprotektivním a antiapoptickým účinkem. (Zhang a kol. 2000, Sun a kol. 2003, Li a kol. 2005)

V současné době je v experimentálních podmínkách testován **IGF-1** (insulin-like growth factor-1). Tento růstový faktor stimuluje neurogenezi (proliferaci progenitorových buněk) v gyrus dentatus hipokampu u laboratorních potkanů (SHR). Rovněž byla v souvislosti s IGF-1 prokázána zvýšená aktivita proteinkinasy B. IGF-1 by mohl být novým neuroprotektivním lékem poškození mozku v důsledku ischemie, ale i lékem ostatních onemocnění, které provází neuronální apoptóza, jako je Huntingtonova nebo Parkinsonova choroba. (Fukanaga, Kawano 2003, Dempsey a kol. 2003) V klinické praxi byly u starších pacientů s ischemií mozku nízké hladiny cirkulujícího IGF-1 ukazatelem klinických následků. (Denti a kol. 2004)

Poznatky, že postmenopausální diabetické ženy jsou specifickou rizikovou skupinou se zvýšeným výskytem mozkové ischemie a horších následků v porovnání se stejně starými muži nebo nediabetickými ženami, vedlo skupinu vědců v Pennsylvánské státní universitě k sestavení pokusu na laboratorních myších. Prokázali, že **estrogeny** mají neuroprotektivní účinek v oblasti mikroglie (inhibice mikrogliaální aktivity) a redukuje poškození (redukcí odložené buněčné smrti, snížením apoptózy, tzn. zabráněním přechodu penumbrální oblasti do infarktu) u normo-glykemických zvířat. Tento prospěšný účinek však chybí u diabetických myší. Estrogeny stimulují časnou postischemickou expresi antiapoptických genů *bcl-2* a *bfl-1* (makrofágy, mikroglie). (Zhang a kol. 2004) Vegeto a kol. (2003) objevili, že u laboratorních potkanů jsou účinky estrogenů v mozku zprostředkovány ER- α (estrogenový receptor α).

V terapii ischemií je dnes běžně užíván **insulin**. Lanier a kol. 1996 ve svých experimentálních šetřeních na zvířatech vycházel z předpokladu, že hyperglykémie spojená s diabetes mellitus zhoršuje neurologické poškození po celkové ischemii mozku. Zjišťoval, jestli akutní obnova normoglykémie u diabetických jedinců (insulinovou infuzí) vede k neurologickým následkům, které jsou srovnatelné s následky u normoglykemických potkanů. U zvířat byla sledována cerebrální glukosa, glykogen, produkce laktátu a vysokoenergetické fosfáty. Akutní insulinová terapie vedla k metabolickému profilu, který byl obdobný nediabetickým zvířatům. Rovněž Wass a kol. 1996 potvrdil u laboratorních potkanů výskyt stejných výsledků u hyperglykemických potkanů s ischemií mozku při obnově normoglykémie při užití insulinu a kontrolních normoglykemických potkanů podrobených stejnému zákroku. Při obnově normoglykémie insulinem dochází ke snížení histologického poškození. Obdobné nálezy týkající se redukce neuronální nekrózy ukázalo již dříve, rovněž na laboratorních potkanech, několik autorů ve svých experimentech. (Voll, Auer 1991, Hamilton a kol. 1995) Klinické nálezy potvrzují, že intenzivní insulinová terapie udržující hladinu krevní glukosy mezi 4,4 – 6,1 mmol/l během intenzivní péče pacientů v kritickém stavu s ischemií srdce a mozku ukazuje signifikantní snížení mortality, septické morbidity, selhání orgánů při sepsi, potřebu transfuze a polyneuropatie. (Preiser a kol. 2002, Nguyen, Koroshetz 2003) Naproti tomu bylo u laboratorních potkanů potvrzeno zhoršení poškození mozku, byla-li během terapie insulinem navozena hladina glykémie nižší než 2-3 mmol/l. (Zhu, Auer 2004) Během katabolické fáze ischemie mozku dochází k rozvoji insulinové resistance (zvláště ve svalové a tukové tkáni), také terapie dexamethazonem indukuje insulinovou resistenci. (Schurr 2002). Insulin není

dostatečně účinný u těchto stavů spojených s insulinovou rezistencí, proto se neustále pátrá po dalších možných terapeutických cestách.

Ve skupině nootropních látek sloužících k podpoře metabolismu v mozkové tkáni užívaných v klinické praxi se objevuje mimo piracetam, pyritinol, proteolytické deriváty prasečích mozků a telecí krve, extrakt z Gingo biloba rovněž námelový alkaloid nicergolin, jehož účinnost byla prokázána u chronické cerebrovaskulární insuficience, a který může být i vhodným doplňujícím lékem akutního iktu. (Kalvach a kol. 1997) V experimentálním výzkumu jsou jako neuroprotektivní látky u diabetických potkanů zkoušeny **antagonisté receptorů N-metyl-D-aspartátu (NMDA) dizolcipin a Mg^{2+} ionty** (Bômont, Mac Kenzie 1995, Davis a kol. 1997, Biegon a kol. 2004), patřící do skupiny antagonistů receptorů excitačních aminokyselin (glutamátu a aspartátu). Tyto aminokyseliny stimulují dva receptory NMDA a AMPA (receptor α -aminohydroxymetyl-isoxazol-propionové kyseliny). V podmínkách ischemie mozku vede tato stimulace k masivnímu influxu Ca^{2+} s následnou dezintegrací buňky. Významnější jsou antagonisté AMPA pro podstatněji větší úlohu AMPA-receptorů v podmínkách ischemie, protože NMDA-receptory jsou blokovány poklesem pH v ischemickém ložisku. Davis ve svých pokusech zjistil, že **Mg^{2+} ionty** mají dobré výsledky zejména u mladých zvířat a mají schopnost ochraňovat penumbrální neurony a že vhodná inotropní výživa spolu s udržením normoglykémie může být užita pro neuroprotekcii. Rovněž se v terapii ischemie objevují látky ovlivňující NMDA receptory jiným způsobem (**Ceftriaxon**, β -laktamové antibiotikum; zvyšuje expresi GLT1). (Mao 2005)

Oxid dusnatý je důležitý mediátor vyvolávající postischemické poškození u hyperglykemických potkanů. **Inhibitor syntézy oxidu NO NG-nitro-L-arginin methylester (L-NAME)** (Quast a kol. 1995, Wei, Quest 1998) omezuje tvorbu edému, zlepšuje reperfuzi a redukuje objem infarktu u takto postižených zvířat. Obdobné nálezy byly potvrzeny i u myši, kde L-NAME redukoval rovněž objem infarktu, neurologický deficit a stržení hematoencefalické bariéry. (Ding-Zhou a kol. 2002)

Je známo, že zánět je jeden z mechanismů, který způsobuje sekundární poškození následující po ischemii mozku. Ischemizovaný cévní endotel podporuje vznik zánětu poruchou regulace adhesivních molekul jako je IgCAM, E-selektin, L-selektin a P-selektin, které umožňují interakci mezi endoteliálními buňkami a cirkulujícími leukocyty, které snadněji migrují do CNS. V mozku může pak produkce cytotoxických molekul usnadnit buněčnou smrt. Odpověď makrofágů a mikroglií na

zranění mozku může být jak prospěšná, vychytáváním nekrotického odpadu, tak škodlivá, usnadněním buněčné smrti neuronů. (Danton a kol. 2003) V této souvislosti je dalším lékem zkoušeným u hyperglykemických zvířat s ischemií mozku **cyklosporin A** (Li a kol. 1997). Tato imunosupresivní látka výrazně eliminuje vznik neuronální nekrózy a zabraňuje výskytu záchvatů u zvířat s hladinou glykémie 13 mmol/l, u zvířat s hladinou 20 mmol/l není účinek tak výrazný. Protektivní účinek cyklosporinu A byl potvrzen i v následující studii zabývající se globální ischemií u potkanů. Jeho význam je největší v prvních dnech po přechodné ischemii mozku, kdy Th1 buňky mohou zkříženě reagovat s neuronálními proteiny a antigeny uvolňujícími se v důsledku ischemie a tím vyvolávat vznik dalšího poškození mozku. (Sinigaglia-Coimbra a kol. 2002)

V rámci prevence následků ischemie mozku testují vědci také účinky intranasálního podání **E-selektinu**. U SHR potkanů podrobených ischemii mozku, následně po podání E-selektinu, došlo ke snížení objemu infarktového ložiska. (Chen a kol. 2003)

V experimentálních podmínkách byl také prokázán neuroprotektivní účinek (prevence neuronální apoptózy) a protizánětlivý účinek (inhibice produkce TNF, IL-1, IFN- γ , volných kyslíkových radikálů) **erythropoetinu**. (Sirén a kol. 2001, Villa a kol. 2003)

Dichloracetát (Dimlich, Nielsen 1992) usnadňuje pokles mozkového laktátu během reperfuze po cerebrální ischemii.

Další studie (Pahlmark 1993) zkoumala vliv **dimethylthiourey** (lapač volných radikálů) u cerebrální ischemie. Hypotézy předpokládají, že volné radikály jsou mediátory poškození jen v případech, kdy má ischemie dostatečně dlouhé trvání nebo kdy je přítomna hypertermie nebo preischemická hyperglykémie. Dimethylthiourea výrazně redukovala poškození neuronů v hippokampu, caudoputamen a neokortexu. Čínští vědci (Fang a kol. 2001) zkoumali vliv čajových **katechinů** na koncentrace MDA (malondyaldehyd) během mozkové ischemie a reperfuze u potkanů. Zjistili, že koncentrace MDA v mozkové tkáni a séru byly nižší u zvířat s katechiny (30mg/kg a 50mg/kg, i.p., qd x 7 dní) než u kontrolních zvířat bez katechinů. Novým účinným vychytávačem volných radikálů by mohl být **FR210575** (8-(4-fluorophenyl)-2-((2E)-3-propenoyl)-1,2,3,4-tetrahydropyrazolol [5,1-c] [1,2,4] triazin, který v tkáňové kultuře statisticky významně inhiboval neuronální smrt a u potkanů podrobených fokální ischemii mozku redukoval o 36% rozsah ischemického poškození mozku. (Iwashita a kol. 2003) U hyperglykemických potkanů s cerebrální ischemií byl zkoumán také

účinek **dehydroaskorbové kyseliny** (DHA, oxidovaná forma vitamínu C) na markery oxidativního stresu a zánětu. Účinky DHA vedly k normalizaci hladin MnSOD (Mn superoxid dismutasa), CuZnSOD (CuZn superoxid dismutasa), COX-2 (cyclooxygenasa-2), IL-1 beta. (Bemeur a kol. 2005)

Účinky **3-metyl-1-fenyl-pyrazolin-5on** (MCI-186) studoval Watanabene (1994) u ischemizovaných laboratorních potkanů. Preischemické podání této látky usnadňuje obnovu elektrokortikografické aktivity a prodlužuje dobu přežití potkanů s celkovou ischemií. Postischemické podání MCI-186 snižuje kortikální infarktace u potkanů a fokální embolizaci, hydroxylaci salicylátů indukovanou volnými hydroxylovými radikály. Podání MCI-186 v době ischemie snižuje hyperglykémii, hyperlipoperoxidemii a degranulaci β buněk. Rovněž inhibuje na železe závislou peroxidaci a předchází tak dezintegraci mitochondriálních membrán.

Z těchto všech uvedených látek tedy pouze terapie insulinem byla zaměřena přímo na snížení hyperglykémie, podobně tak jako léčba terguridem.

Každý krok vedoucí ke zmenšení vlivu faktorů, které se podílejí na zhoršení následků po ischemickém poškození mozku, přináší naději pro snížení mortality a morbidit u pacientů v této indikaci.

6. Závěr

1. Námi používaný model intolerance glycidů navozený ischemií mozku u potkanů kmene Wistar i u kmene Koletského typu můžeme považovat za vhodný **model poruch metabolismu glycidů**, neboť u obou kmenů a u obou pohlaví došlo k silnému statisticky významnému nárůstu glykémie.

2. Účinek terguridu na toleranci glycidů je vyjádřen v kmenové a pohlavní závislosti. **Tergurid statisticky významně snížil glykémii u Te skupin ve všech sledovaných věkových pásmech a u obou pohlaví kmene Wistar**, vyjma jedné skupiny samic ve druhém pásmu. U samců tohoto kmene činilo snížení průměrně **42,32%** a u samic tohoto kmene o **24,16%**. **U samců kmene Wistar je tergurid schopen přiblížit hladiny glykémie zvířat podrobených ischemii mozku hladinám glykémie intaktních zvířat CoI skupin.**

3. U zvířat kmene **Koletského typu** byla **hyperglykémie navozená ischemií mozku u Te skupin terguridem snížena** ve všech pásmech a skupinách obou pohlaví. Toto snížení tvořilo v průměru u samců **26,07%**, u samic pak **20,65%**. Na rozdíl od kmene Wistar statistická významnost snížení glykémie při terapii terguridem byla nalezena nikoliv u samců, ale u samic Koletského typu. **Ani u samců ani u samic Koletského typu není schopen tergurid přiblížit hladiny krevní glukosy zvířat podrobených ischemii mozku hladinám glykémie intaktních zvířat CoI skupin.**

4. Ischemie mozku způsobila nárůst podílu vody v mozku ve všech pásmech u potkanů kmene Wistar, statisticky významně ve druhém a třetím pásmu. U samic téhož kmene jsme rovněž našli větší podíl vody v mozku ve druhém a třetím pásmu, nikoliv však statisticky významně. U samců Koletského typu se také objevil nárůst podílu vody v mozku ve druhém a třetím pásmu, rozdíl byl statisticky významný. U samic tohoto kmene navodila ischemie mozku větší podíl vody v mozku ve druhém, ve třetím a ve čtvrtém pásmu. Ve druhém a ve třetím pásmu byl rozdíl statisticky významný. Tyto nálezy potvrzují údaje publikované v teoretické části práce.

Pouze u samců kmene Wistar došlo ve čtvrtém pásmu pomocí terapie terguridem ke statisticky významnému snížení podílu vody v mozku. U CoII skupin samců tohoto kmene došlo k největšímu nárůstu glykémie a největší úmrtnosti a také největšímu snížení glykémie pomocí terguridu, ve srovnání s ostatními zvířaty obou kmenů a obou pohlaví, což koresponduje s nálezy podílu vody v mozku v této skupině zvířat.

7. Souhrn

1. Byl studován vliv terguridu (transdihydrolysurid) na glukosovou toleranci, mortalitu a obsah vody v mozku laboratorních potkanů kmene Wistar a potkanů Koletského typu. Intolerance glycidů byla vyvolána ischemií mozku a následnou reperfusí po oboustranném dočasném uzávěru a. carotis communis.

2. Ischémie a reprefuse vyvolaly exitus u 48% operovaných zvířat nepředléčených terguridem. U všech přeživších zvířat došlo v průběhu pokusu k statisticky významné hyperglykémii.

3. Předléčení terguridem snížilo mortalitu zvířat – činila 43%. Tergurid snížil glykémii o 21%-42% a to u kmene Wistar u obou pohlaví, u zvířat Koletského typu signifikantně pouze u samic. U samců kmene Wistar tergurid signifikantně snížil podíl vody v mozku.

4. Nejcitlivější k pokusům byli samci kmene Wistar (nejvyšší nárůst glykémie po ischemii mozku, nejvyšší mortalita během reprefuse, nejvyšší pokles glykémie po aplikaci terguridu). Pokud jde o reakci zvířat různého stáří, nebyla nalezena jednotná tendence citlivosti podle věku.

8. Literatura

Abraham CS, Harada N, Deli MA, Niwa M. Transient ischemia increases the blood-brain barrier permeability for albumin in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Cell Mol Neurobiol* 2002, 22:455-462.

Adham N, Romanienko P, Harting P, Weishank RL, Branchek T. *Mol Pharmacol* 1992, citováno podle: Eich E, Pertz H. Ergot alkaloids as lead structures for differential receptor systems. *Pharmazie* 1994, 49:867-877.

Akai T, Yamaguchi M, Mizuta E, Kuno S. Effects of terguride, a partial D-2 agonist, on MPTP-lesioned parkinsonian cynomolgus monkeys. *Ann Neurol* 1993, 33:507-511.

Akai T, Ozawa M, Yamaguchi M, Mizuta E, Kuno S. Combination treatment partial D-2 agonist terguride with the D-1 agonist SKF-82958 in 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-lesioned parkinsonian cynomolgus monkeys. *J Pharmacol Exp Ther* 1995, 273:309-314.

Albano C, Comandante L, Nolan S. Innovations in the management of cerebral injury. *Crit Care Nurs Q* 2005, 28:135-149.

Allen KL. A sodium magnetic resonance imaging study of acute cerebral ischaemia in the gerbil. *Acta Neurochir* 1994, 60:220-223.

Alvarez-Sabin J, Molina CA, Montaner J, Arenillas JF, Huertas R, Ribo M, Codina A, Quintana M. Effects of admission hyperglycemia on stroke outcome in reperfused tissue plasminogen activator-treated patients. *Stroke* 2003, 34:1235-1241.

Anderson RE, Tan WK, Martin HS, Meyer FB. Effect of glucose and pO₂ modulation on cortical intracellular acidosis, NADH redox state, and infarction in the ischemic penumbra. *Stroke* 1999, 30:160-170.

AISLP mikro-verze, 2004.

Araki N, Greenberg JH, Sladky JT, Uematsu D, Karp A, Reivich M. The effect of hyperglycemia on intracellular calcium in stroke. *J Cereb Blood Flow Metab* 1992, 3:469-476.

Baird TA, Parsons MV, Phan T, Butcher KS, Desmond PM, Tress BM, Colman PG, Chambers BR, Davis SM. Persistent poststroke hyperglycemia is independently associated with infarct expansion and worse clinical outcome. *Stroke* 2003, 34:2208-14.

Bartoš V, Pelikánová T. *Praktická diabetologie*. Praha, Maxdorf 1996, s. 26-56, 162-284.

Beer MS, Middlemiss DN, McAllister G. *Trends Pharmacol Sci* 1993, citováno podle: Eich E, Pertz H. Ergot alkaloids as lead structures for differential receptor systems. *Pharmazie* 1994, 49:867-877.

Bemeur C, Ste-Marie L, Desjardins P, Vachon L, Butterworth RF, Hazell AS, Montgomery J. Dehydroascorbic acid normalizes markers of oxidative stress and inflammation in acute hyperglycemic focal cerebral ischemia in the rats. *Neurochem Int* 2005, 46:399-407.

Biegon A, Fry PA, Paden CM, Alexandrovich A, Tsenter J, Shohami E. Dynamic changes in N-methyl-D-aspartate receptors after closed head injury in mice: Implications for treatment of neurological and cognitive deficits. *PNAS* 2004, 101:5117-5122.

Bomont L, MacKenzie ET. Neuroprotection after focal cerebral ischaemia in hyperglycaemic and diabetic rats. *Neurosci Lett* 1995, 1:33-56.

Bramlett HM, Dietrich WD. Neuropathological protection after traumatic brain injury in intact female rats versus males or ovariectomized females. *J Neurotrauma* 2001, 18:891-900.

Brillault J, Berezowski V, Cecchelli R, Dehouck MP. Intercommunications between brain capillary endothelial cells and glial cells increase transcellular permeability of the blood-brain barrier during ischaemia. *J Neurochem* 2002, 83:807-817.

- Bruno A, Levine SR, Frankel MR, Brott TG, Lin Y, Tilley BC. Admission glucose level and clinical outcome in NINDS rt-PA Stroke Trial. *Neurology* 2002, 59:668-74.
- Bruno A, Williams LS, Kent TA. How important is hyperglycemia during acute brain infarction? *Neurologist* 2004, 10:195-200.
- Busto R, Dietrich WD, Globus MYT, Ginsberg MD. The importance of brain temperature in cerebral ischemic injury, citováno podle: Kalvach P, Adam P, Kalvach Z, Kalita Z, Skřivánek O, Tichý J, Votava J, Vymazal J, Zvěřina E. *Mozkové ischémie a hemorhagie*. Praha, Grada Publishing 1997, s. 41-79.
- Cerman J. Hypofyzární gastrin a cholecystokinin, Vztah ACTH a gastrinu v pituitární tkáni potkana a člověka. Praha, Galén 1998, s. 28-29.
- Chen Y, Swanson RA. Astrocytes and brain injury. *J Cereb Blood Flow Metab* 2003, 23:137-149.
- Ciccarelli E, Camanni F. Diagnosis and drug therapy of prolactinoma. *Drugs* 1996, 51:954-965.
- Cipolla MJ, Crete R, Vitullo L, Rix RD. Transcellular transport as a mechanism of blood-brain barrier disruption during stroke. *Front Biosci* 2004, 1:777-785.
- Cohen ML, Fuller RW, Kurz KD. *J Pharmacol Exp Ther* 1983, citováno podle: Eich E, Pertz H. Ergot alkaloids as lead structures for differential receptor systems. *Pharmazie* 1994, 49:867-877.
- Copin JC, Gashe. Morphology and physiology of the blood-brain barrier. *Ann Fr Anesth Reanim* 2003, 22:202-14.
- Craig CR, Stitzel RE. *Modern pharmacology with clinical applications*. Baltimore, Lippincott Williams&Wilkins 2004, s. 263-265, 287-288, 369, 679, 718-719.
- Cronberg T, Rytter A, Asztely F, Soder A, Wieloch T. Glucose but not lactate in combination with acidosis aggravated ischemic neuronal death in vitro. *Stroke* 2004, 35:753-757.
- Dallabonzana D, Liuzzi A, Dorow R, Chiodini P, Oppizzi G, Verde G, Horowski R. Effect of new ergot derivate terguride on plasma PRL and GH levels in patients with pathological hyperprolactinemia or acromegaly. *J Endocrinol Invest* 1985, 8:147-151.
- Dallabonzana D, Chiodini P, Cozzi R, Dorow R, Horowski R, Liuzzi A, Oppizzi G, Rainer E, Verde G. Chronic treatment of pathological hyperprolactinemia and acromegaly with the new ergot derivate terguride. *Clin Endocrinol Metab* 1986, 63:1002-1007.
- Danton GH, Dietrich WD. Inflammatory mechanisms after ischemia and stroke. *J Neuropathol Exp Neurol* 2003, 62:127-136.
- Davis M, Perry RH, Mendelow AD. The effect non-competitive A-methyl-D-aspartate receptor antagonism on cerebral oedema and cerebral infarct size in the aging ischaemic brain. *Brain Edema* 1997, 70:30-33.
- Dempsey RJ, Baskaya MK, Combs DJ, Donaldson D, Rao AM, Prasad MR. Effect of hyperglycemia on reperfusion-associated recovery of intracellular pH and high energy phosphates after cerebral ischemia in gerbils. *Neurol Res* 1996, 18:546-52.
- Dempsey RJ, Sailor KA, Bowcn KK, Türeyen K, Vemuganti R. Stroke-induced progenitor cell proliferation in adult spontaneously hypertensive rat brain: effect of exogenous IGF-1 and GDNF. *J Neurochem* 2003, 87:586-597.
- Denti L, Annoni V, Cattadori E, Salvagnini MA, Visioli S, Merli NF, Corradi F, Ceresini G, Valenti G, Hoffman A, Ceda GP. Insulin-like growth factor I as a predictor of ischemic stroke outcome in the elderly. *Am J Med* 2004, 117:312-317.

- Dimlich RV, Nielsen MM. Facilitating postischemic reduction of cerebral lactate in rats. *Stroke* 1992, 8:1145-1153.
- Ding C, He QP, Li PA. Activation of cell death pathway after a brief period of global ischemia in diabetic and non-diabetic animals. *Exp Neurol* 2004, 188:421-429.
- Ding C, He Q, Li PA. Diabetes increases expression of ICAM after a brief period of cerebral ischemia. *Neuroimmunol* 2005, 161:61-67.
- Ding-Zhou L, Marchand-Verrecchia C, Croci N, Plotkine M, Margail I. L-NAME reduces infarction, neurological deficit and blood-brain barrier disruption following cerebral ischemia in mice. *Eur J Pharmacol* 2002, 457:137-46.
- Dirnagl U, Iadecola C, Moskowitz MA. Pathobiology of ischaemic stroke: an integrated view. *Trends Neurosci* 1999, 22:391-397.
- Dumois A, Bouhelal R, Sebben M, Cory R, Bockaert J. Mol Pharmacol 1988, citováno podle: Eich E, Pertz H. Ergot alkaloids as lead structures for differential receptor systems. *Pharmazie* 1994, 49:867-877.
- Durmaz R, Ertlav K, Akyüz F, Kanbak G, Bildirici K, Tel E. Lazaroid U-74389G attenuates edema in rat brain subjected to post-ischemic reperfusion injury. *J Neurol Sci* 2003, 215:87-93.
- Eich E, Pertz H. Ergot alkaloids as lead structures for differential receptor systems. *Pharmazie* 1994, 49:867-877.
- Eich E, Pertz H. Antimicrobial and antitumor effect of ergot alkaloids and their derivatives, in *Ergot – The Genus Claviceps*. Křen V, Cvak L. OPA N.V.1999, Amsterdam, s. 441-449.
- Ekholm A, Kristián T, Siesjö BK. Influence of hyperglycemia and hypercapnia on cellular calcium transients during reversible brain ischemia. *Exp Brain Res* 1995, 3:462-466.
- Elfeber K, Kohler A, Lutzenburg M, Osswald C, Galla HJ, Wirre OW, Koepsell H. Localization of the Na/D-glucose cotransporter SGLT1 in the blood-brain-barrier. *Histochem Cell Biol* 2004, 121:201-207.
- Els T, Klisch J, Orszagh M, Hetzel A, Schulte-Monting J, Schumacher M, Lucking CH. Hyperglycemia in patients with focal cerebral ischemia after intravenous thrombolysis: influence on clinical outcome and infarct size. *Cerebrovasc Dis* 2002, 13:89-94.
- Faden AI. Neuroprotection and traumatic brain injury: theoretical option or realistic proposition. *Curr Neurol* 2002, 15:707-712.
- Fang F, Han YJ, Cui ZQ. The protective effects of tea catechins on the injury of cerebral ischemia and reperfusion in rats. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* 2001, 26:777-780.
- Farrokhnia N, Roos MW, Terént A, Lennmyr F. Differential early mitogen-activated protein kinase activation in hyperglycemic ischemic brain injury in the rat. *Eur J Clin Invest* 2005, 35:457-463.
- Feinstein R, Kanety H, Papa MZ, Lunenfeld B, Karasik A. Tumor necrosis factor-alpha suppresses insulin-induced tyrosine phosphorylation of insulin receptor and its substrates. *J Biol Chem* 1993, 268:26055-8.
- Finocchi C, Gandolfo C, Gasparetto B, Del Sette M, Croce R, Loeb C. Value of early variables as predictors of short-term outcome in patients with acute focal cerebral ischemia. *Ital J Neurol Sei* 1996, 17:341-346.
- Fišerová A, Pospíšil M. Role of ergot alkaloids in the immune system, in *Ergot – The Genus Claviceps*. Křen V, Cvak L. OPA N.V.1999, Amsterdam, s. 451-467.
- Fišerová A, Trinchieri G, Chan S, Bezouška K, Flieger M, Pospíšil M. Ergot alkaloids induced cell proliferation, cytotoxicity and lymphokine production. *Adv Exp Med Biol* 1995, 371:163-166.

Flieger M, Wurst M, Shelby R. Ergot alkaloids – sources, structures, and analytical methods. *Folia Microbiol* 1997, 42:16.

Fukanaga K, Kawano T. Akt is a molecular target for signal transduction therapy in brain ischemic insult. *J Pharmacol Sci* 2003, 4:317-327.

Ganong FW. *Přehled lékařské fyziologie*. Jinočany, H&H 1995, s. 506.

Gasche Y, Copin JC. Blood-brain barrier pathophysiology and ischaemic brain oedema. *Ann Fr Anesth Reanim* 2003, 22:312-319.

Ginsberg MD. Local metabolic responses to cerebral ischemia. *Cereb Brain Metab Rev* 1990, 2:58-93.

Ginsberg MD. Hyperglycemia and stroke outcome: vindication of the ischemic penumbra. *Ann Neurol* 2002, 52:5-9.

Golda V. a Grantová zpráva (IGA Ministerstva zdravotnictví ČR č. 3684-3): Studium ambivalentního účinku léku v terapii intolerance glukosy a hyperlipemie. Hradec Králové 1998, 6.

Golda V. b Ambivalent effect of long lasting terguride treatment on genetically based and lipide metabolism abnormalities in SHR/N-cp Koletsky rats. *Acta Med* 1998, 41:81-84.

Golda V. c The determination of basal glycemia and glucose tolerance curve: the manner of blood sampling. *Acta Med* 1998, 41:121-123.

Golda V, Cvak L. Ambivalent effect of terguride on glucose tolerance. *Physiol Res* 1995, 44:14-16.

Golda V, Hilgertová J. a Glucose intolerance induced by oligemic brain hypoxia: the effect of tergurid. *Acta Medica* 1997, 40:57-60.

Golda V, Hilgertová J. b Effect of trans-dihydro-lisuride on insulin binding, insulinemia, glucose tolerance and hyperlipemia in SHR Koletsky rats. *Physiol Res* 1997, 43:299-305.

Golda V, Hilgertová J. c Effect of dehydroepiandrosterone on lipemia, glucose tolerance, insulinemia, insulin binding to erythrocytes. *Acta Med* 1997, 40:31-35.

Golda V, Hilgertová J. d Effect of terguride on insulin binding, insulinemia, glucose tolerance and hyperlipaemia in lean SHR Koletsky rats. *Physiol Res* 1997, 46:439-442.

Golda V, Hilgertová J. Effect of long lasting terguride treatment on mutual relationship between glycidic and lipide parameters in SHR/N-cp Koletsky rats. *Acta Med* 1998, 41:13-17.

Golda V, Petr R. Genetically based animal model of affective disorders: The spontaneously hypertensive rats of Koletsky type. *Sborník vědeckých lékařských prací* 1988, vol 31, 5:483-489.

Golda V, Petr R, Čermák F, Malec R. Blood pressure in the normotensive and genetically hypertensive rats: age, sex and narcosis dependency. *Sborník vědeckých lékařských prací* 1981, vol. 24, 3:307-315.

Graf KJ. Terguride in the treatment of prolactinomas and acromegalic patients. *Acta Endocrinol* 1987, 114:74-75.

Gutierrez MA, Anaya JM, Gabrera GE, Vindrola O, Espinoza LR. Prolactin, a link between the neuroendocrine and immune systems. Role in the pathogenesis of rheumatic diseases, citováno podle: Fišerová A, Pospíšil M. Role of ergot alkaloids in the the immune system, in *Ergot – The Genus Claviceps*. Křen V, Cvak L. OPA N.V.1999, Amsterdam, s. 451-467.

Guyot LL, Diaz FG, Oregan MH, Song D, Phillis JW. a Topical glucose and accumulation of excitotoxic and other amino acids in ischemic cerebral cortex. *Horm Metab Res* 2000, 32:6-9.

Guyot LL, Diaz FG, Oregan MH, Song D, Phillis JW. b The effect of topical insulin on the release of excitotoxic and other amino acids from the rat cerebral cortex during streptozotocin-induced hyperglycemic ischemia. *Brain Res* 2000, 28:29-36.

Hakim AM. Penumbra and blood brain flow. *Can J Neurol Sci* 1987, 14:557-559.

Hamilton MK, Tranmer BI, Auer RN. Insulin reduction of cerebral infarction due to transient focal ischemia. *J Neurosurg* 1995, 82:262-268.

Hasko G, Szabo C, Merkel K, Bencsics A, Zingarelli B, Kvetan V, Vizi ES. Modulation of lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor-alpha and nitric oxide production by dopamine receptor agonists and antagonists in mice. *Immunol Lett* 1996, 49:143-147.

Hardman JG, Gilman AG, Limbird LE. The pharmacological basic of therapeutics, Goodman&Gilman's, Tenth edition, McGraw – Hill, United States 2001, s. 487-500, 939-947, 1363-1370.

Heis XD. Ischemic penumbra: Evidence from functional imaging in man. *J Cereb Blood Flow Metab* 2000, 20:1276-1293.

Hensyl WR. Stedman's medical dictionary. 25th Edition, Baltimore, USA, Williams & Wilkins, 1990, s. 209, 466, 531.

Hotamisligil GS, Budavart A, Murray D, Spiegelman BM. Reduced tyrosine kinase activity of the insulin receptor in obesity-diabetes. Central role of tumor necrosis factor-alpha. *J Clin Invest* 1994, 94:1543-1549.

Hotamisligil GS. IRS-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF-alpha- and obesity-induced insulin resistance. *Science* 1996, 273:665-668.

Hrdina R, Fendrich Z, Hrdina V, Višňovský P, Vlček J. *Farmakologický slovník*, Praha, Maxdorf 1997, s. 181-182, 171.

Hrnčiar J. Klinické prejavy syndrómu inzulinovej rezistencie. Hormonálne-metabolický syndróm X, syndróm 5H a ich etiopatogenéza. *Vnitř Lék* 1995, 41:92-98.

Hřebíček J, Rypka M, Chmela Z, Veselý J, Kantorová M, Golda V. Tumor necrosis factor α in various tissues of insulin-resistant obese Koletsky rats: relations to insulin receptors characteristics. *Physiol Res* 1999, 48:83-86.

Hubík J, Dušek J, Spilková J, Šícha J. *Obecná farmakognosie II – sekundární látky*, Praha, SPN 1989, s. 151-154.

Hurd K, Chopp M, Vande Linde AM, Li Y, Spencer T. Effect of moderate hyperglycemia on the temporal profile of brain tissue intracellular pH and $[Mg^{2+}]$ after global cerebral ischemia in rats. *Neurol Sci* 1995, 129:90-96.

Cherian L, Goodman JC, Robertson CS. Hyperglycemia increases brain injury caused by secondary ischemia after cortical impact injury in rats. *Crit Care Med* 1997, 25:1378-1383.

Christensen H, Boysen G. Blood glucose increases early after stroke onset: a study on serial measurements of blood glucose in acute stroke. *Eur J Neurol* 2002, 9:297-301.

Islam N, Aftabuddin M, Moriwaki A, Koirala TR, Hori Y. Blood glucose and ischemic brain damage. *Indian J Pathol Microbiol* 1998, 41:15-22.

Iwashita A, Maemoto T, Nakada H, Shima I, Matsuoka N, Hisajima H. A novel potent radical scavenger, FR210575, prevents neuronal cell death in cultured primary neurons and attenuates brain injury after focal ischemia in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 2003, 3:961-968.

Jeremitsky E, Omert L, Dunham CM, Wilberger J, Rodriquez A. The impact of hyperglycemia on patients with severe brain injury. *J Trauma-Injury Inf&Critic Care* 2005, 58:47-50.

Kagansky N, Levy S, Knobler H. The role of hyperglycemia in acute stroke. *Arch Neurol* 2001, 58:1209-1212.

Kalvach P, Adam P, Kalvach Z, Kalita Z, Skřivánek O, Tichý J, Votava J, Vymazal J, Zvěřina E. *Mozkové ischémie a hemorhagie*. Praha, Grada Publishing 1997, s. 41-79.

Katzung BC. *Základní klinická farmakologie*. Jinočany, Nakladatelství a vydavatelství H&H 1994, s. 123-136, 253-257, 398-410.

Kawai N, Keep RF, Betz AL, Nagao S. Hyperglycemia induces progressive changes in the cerebral microvasculature and blood-brain barrier transport during focal cerebral ischemia. *Acta Neurochir Suppl* 1998, 71:219-221.

Kawai N, Stummer W, Ennis SR, Betz AL, Keep RF. Blood-brain barrier glutamine transport during normoglycemic and hyperglycemic focal cerebral ischemia. *Ecological Modelling* 1999, 116:79-86.

Kim H, Koehler RC, Hurn PD, Hall ED, Traystman RJ. Amelioration of impaired cerebral metabolism after severe acidotic ischemia by tirilazad posttreatment in dogs. *Stroke* 1996, 1:114-121.

Kittaka M, Wang L, Sun N, Schreiber SS, Seeds NW, Fisher M, Zlokovic BV. Brain capillary tissue plasminogen activator in a diabetes stroke model. *Stroke* 1996, 27:712-719.

Klatzo I. Evolution of brain edema concepts. *Acta Neurochir* 1994, 60:3-6.

Klatzo I. Disturbances of blood-brain barrier in cerebrovascular disorders, citováno podle: Kalvach P, Adam P, Kalvach Z, Kalita Z, Skřivánek O, Tichý J, Votava J, Vymazal J, Zvěřina E. *Mozkové ischémie a hemorhagie*. Praha, Grada Publishing 1997, s. 41-79.

Klener P, Anděl M, Aschermann M, Bartůňková J. a kol. *Vnitřní lékařství, druhé vydání*, Praha, Galén, Karolinum 2001, s.759.

Knotková Z, Knotek Z. *Drobní savci, fyziologické hodnoty, léky a jejich dávkování*. Noviko a.s., Brno 2000, s. 34-35.

Koletsy S. New type of spontaneously hypertensive rats with hyperlipemia and endocrine gland defect. In: *Spontaneous hypertension. Its pathogenesis and complications*. K. Okamoto (Ed.). Idagu Ltd., Tokyo 1972, 65:194-197.

Koletsy S. a New type of spontaneously hypertensive rats with hyperlipemia and endocrine glands defects. *Am J Pathol* 1975, 80:194-197.

Koletsy S. b Pathologic findings and laboratory data in a new strain of obese hypertensive rats. *Am J Pathol* 1975, 80:129-140.

Kuroiwa Z, Ting P, Suzuki R. The relationship of the blood-brain barrier opening to the thresholds of regional cerebral blood flow in cerebral ischemia, citováno podle: Kalvach P, Adam P, Kalvach Z, Kalita Z, Skřivánek O, Tichý J, Votava J, Vymazal J, Zvěřina E. *Mozkové ischémie a hemorhagie*. Praha, Grada Publishing 1997, s. 41-79.

Kozler P. Experimentální in vivo modely ischémie mozku. *Čs Fyziol* 2002, 2:61- 68.

Křen L. Biotransformations of ergot alkaloids. in *Ergot – The Genus Claviceps*. Křen V, Cvak L. OPA N.V.1999, Amsterdam, s. 401.

Kudláčková Z, Hronek M. a Hladina glykémie – ukazatel závažnosti ischemického poškození mozku – I. *preklinické studie*. *DMEV* 2001, 4:287-292.

Kudláčková Z, Hronek M. b Hladina glykémie – ukazatel závažnosti ischemického poškození mozku – II. *klinické studie*. DMEV 2001, 4:293-298.

Labiche LA, Grotta JC. Clinical trials for cytoprotection in stroke. *NeuroRx*® 2004, 1:46-70.

Lai ML, Hsu CY, Liu TH, He YJ. Effect of fish oil supplementation on acute ischemic brain injury in the rat. *Neurology* 1993, 6:1227-1232.

Lange KW, Lochmann PA, Wachtel H, Horowski R, Jahnig P, Jenner P, Marsden CD. Terguride stimulates locomotor-activity at 2 months but not 10 months after 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine treatment of common marmosets. *Eur J Pharmacol* 1992, 212:247-252.

Lang CH, Molina PE, Yousef KA, Tepper PG, Abumrad NN. Role of IL-1 alpha in central nervous system immunomodulation of gluco-regulation. *Brain Res* 1993, 624:53-60.

Lanier WL, Hofer RE, Gallagher WJ. Metabolism of glucose, glycogen and highenergy phosphates during transient forebrain ischemia in diabetic rats: effect of insulin treatment. *Anesthesiology* 1996, 4:917-925.

Lepore G, Formentano A, Boselli L, Nosari I. Clinical significance of admission hyperglycemia in critical non-diabetic patients after head injury or subarachnoid hemorrhage. *Diabetes Nutr & Metab* 1998, 11:175-178.

Li PA, He QP, Csiszar K, Siesjö BK. Does long-term glucose infusion reduce brain damage after transient cerebral ischemia? *Brain Research* 2001, 912:203-5.

Li PA, He QP, Miyashita HW, Siesjö BK, Shuiab A. Hyperglycemia enhances extracellular glutamate accumulation in rats subjected to forebrain ischemia. *Stroke* 2000, 31:183-191.

Li PA, He QP, Ouyang YB, Liu CL, Hu BR, Siesjö BK. Early release of cytochrome C and activation of caspase-3 in hyperglycemic rats subjected to transient forebrain ischemia. *Brain Res* 2001, 896:69-76.

Li PA, Kristian T, Shamloo O, Siesjö BK. Effect of preischemic hyperglycemia on brain damage incurred by rats subjected to 2,5 or 5 minutes of forebrain ischemia. *Stroke* 1996, 27:1592-1602.

Li PA, Liu GJ, He QP, Floyd RA, Siesjö BK. Production of hydroxyl free radical by brain tissues in hyperglycaemic rats subjected to transient forebrain ischemia. *Free Radic Biol Med* 1999, 27:1033-1040.

Li PA, Rasquinha I, He QP, Siesjö BK, Csiszar K, Boyd CD, MacManus JP. Hyperglycemia enhanced DNA fragmentation after transient cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 2001, 21:568-576.

Li PA, Shamloo M, Katsura KI, Smith ML, Siesjö BK. Critical values for plasma glucose in aggravating ischaemic brain damage: correlation to extracellular pH. *Neurobiol Dis* 1995, 2:97-108.

Li PA, Uchino H, Elmer E, Siesjö BK. Amelioration by cyclosporin A of brain damage following 5 or 10 min of ischemia in rats subjected to preischemic hyperglycemia. *Brain Res* 1997, 1:133-140.

Li PA, Vogel J, He QP, Smith ML, Kuschinsky W, Siesjö BK. Preischemic hyperglycemia leads to rapidly developing brain damage with no change in capillary patency. *Brain Res* 1998, 782:175-183.

Li SF, Wang RZ, Li GL. Recent advance in experimental study of cerebral ischemia treated by vascular endothelial growth factor. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao* 2005, 27:115-119.

Lin B, Ginsberg MD, Busto R. Hyperglycemic exacerbation of neuronal damage following forebrain ischemia: microglial, astrocytic and endothelial alterations. *Acta Neuropathol (Berl)* 1998, 96:610-620.

Lin B, Ginsberg MD, Busto R, Li L. Hyperglycemia triggers massive neutrophil deposition in brain following transient ischemia in rats. *Neurosci Lett* 2000, 278:1-4.

Lincová D, Farghali H. Základní a aplikovaná farmakologie. Praha, Galén, Nakladatelství Karolinum 2002, s. 90, 299-300, 368, 419-420.

Lindsberg PJ, Kaste M. Trombolysis for ischemic stroke. *b Curr Opin Neurol* 2003, 16:73-80.

Lindsberg PJ, Roine RO. Hyperglycemia in acute stroke. *Stroke* 2004, 35:363-364.

Lindsberg PJ, Soenne L, Roine RO, Salonen O, Tatlisumak T, Kallela M, Häppölä O, Tiainen M, Haapanieni E, Kuisma M, Kaste M. Community-based thrombolytic therapy of acute ischemic stroke in Helsinki. *a Stroke* 2003, 34:1443-1449.

Lundgren J, Smith ML, Siesjö BK. Influence of moderate hypothermia on ischemic brain damage incurred under hyperglycemic conditions. *a Exp Brain Res* 1991, 84:91-101.

Lundgren J, Zhang H, Agardh CD, Smith ML, Evans PJ, Halliwell B, Siesjö BK. Acidosis-induced ischemic brain damage: are free radicals involved? *b J Cereb Blood Flow Metab* 1991, 11:587-594.

Lüllmann H, Mohr K, Wehling M. Farmakologie a toxikologie. Praha, Grada Publishing 2002, s. 153-167.

Maiorello AV, Chaljub G, Nauta HJ, Lacroix M. Chemical shift imaging of mannitol in acute cerebral ischemia. Case report. *J Neurosurg* 2002, 97:687-691.

Makimattila S, Malmberg-Ceder K, Hakkinen AM, Vuori K, Salonen O, Summanen P, Yki-Jarvinen H, Kaste M, Heikkinen S, Lundbom N, Roine RO. Brain metabolic alterations in patients with type 1 diabetes-hyperglycemia-induced injury. *J Cereb Blood Flow Metab* 2004, 24:1393-1399.

Mao J. Glutamate transporter: an unexpected target for some antibiotics. *Molecular Pain* 2005, www.molecularpain.com/content/1/1/5.

Marmarou A, Nakamura T, Tanaka K. The time course and distribution of water in the resolution phase of infusion edema, citováno podle: Kalvach P, Adam P, Kalvach Z, Kalita Z, Skřivánek O, Tichý J, Votava J, Vymazal J, Zvěřina E. Mozkové ischemie a hemorhagie. Praha, Grada Publishing 1997, s. 41-79.

Martignoni E, Horowski R, Liuzzi A, Costa A, Dallabonzana D, Cozzi R, Attanasio R, Rainer E, Nappi G. Effects of terguride on anterior-pituitary function in parkinsonian-patients treated with L-DOPA – a double-blind-study versus placebo. *Clin Neuropharmacol* 1996, 19:72-80.

Martindale – Parfitt K. The complete drug reference, Thirty – second edition, Taunton, Massachusetts, Pharmaceutical Press 1999, s. 1146.

Maruki Z, Koehler RC, Kirsch JR, Blizzard KK, Traystman RJ. Tirilazad pretreatment improves early cerebral metabolic and blood flow recovery from hyperglycemic ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 1995, 1:88-96.

Massimo L, Gennaro B. Current approaches to the prophylaxis of migraine. *CNS Drugs* 1995, 3:165-173.

Mazighi M, Amarenco P. Hyperglycemia: predictor of poor prognosis in acute stroke. *Diabetes Metab* 2001, 27:718-720.

Mehta S, Seth GS. The glucose paradox of cerebral ischaemia. *J Postgraduate Med* 2003, 49:299-301.

Millikan C. Animal stroke models. *Stroke* 1992, 23:795-797.

Mizokawa T, Akai T, Nakada Y, Yamaguchi M, Nakagawa H, Hasan S, Rettig KJ, Wachtel H. Terguride as a new anti-hyperprolactinemic agent-characterization in rats and dogs in comparison with bromocriptine. *Jpn J Pharmacol* 1993, 63:269-278.

Molina CA, Saver JL. Extending reperfusion therapy for acute ischemic stroke: emerging pharmacological, mechanical, and imaging strategies. *Stroke* 2005, 36:2311-2320.

Mršulja BB, Mršulja BJ, Ito U. Experimental cerebral ischemia in Mongolian gerbils. II. changes in carbohydrates, citováno podle: Kalvach P, Adam P, Kalvach Z, Kalita Z, Skřivánek O, Tichý J, Votava J, Vymazal J, Zvěřina E. *Mozkové ischémie a hemorhagie*. Praha, Grada Publishing 1997, s. 41-79.

Muranyi M, He QP, Fong KS, Li Pa. Induction of heat shock proteins by hyperglycemic cerebral ischemia. *Brain Res Mol* 2005, 139:80-87.

Nagi M, Pfefferkorn T, Haberl RL. Blood glucose and stroke. *Nervenarzt* 1999, 70:944-949.

Naveiro J, Castillo J, Suárez P, Aldrey JM, Lema M, Noya M. Time for cerebral damage due to hyperglycemia in acute ischemia. *Rev Neurol* 1998, 26:790-793.

Nejedlý K. *Biologie a soustavná anatomie laboratorních zvířat*. Praha, SPN 1967, s. 636.

Nguyen T, Koroshetz WJ. Intensive care management of ischemic stroke. *Curr Neurol and Neurosci Rep* 2003, 3:32-39.

Olbrich R, Schanz H. The effect of partial dopamine agonist terguride on negative symptoms in schizophrenics. *Pharmacopsychiatry* 1988, 21:389-390.

Olbrich R, Schanz H. An evaluation of the partial dopamine agonist terguride regarding positive symptom reduction in schizophrenics. *J Neuronal Transmission* 1991, 84:233-236.

O'Malley KL, Harmon S, Tang L, Todd RD. *New Biol* 1992, citováno podle: Eich E, Pertz H. Ergot alkaloids as lead structures for differential receptor systems. *Pharmazie* 1994, 49:867-877.

Onténiente B, Couriaud C, Braudeau J, Benchoua A, Guégan C. The mechanisms of cell death in focal cerebral ischemia highlight neuroprotective perspectives by anti-caspase therapy. *Biochemical Pharmacol* 2003, 66:1643-1649.

Osuga S, Hogan MJ. In vivo uptake of [3H] nimodipin in focal cerebral ischemia: modulation by hyperglycemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 1997, 17:1057-1065.

Pahlmark K, Folbergová J, Smith ML, Siesjö BK. Effect of dimethylthiourea on selective neuronal vulnerability in forebrain ischemia in rats. *Stroke* 1993, 5:731-737.

Paiboonpol S. Epilepsia partialis continua as a manifestation of hyperglycemia. *J Med Assoc Thai* 2005, 88:759-62.

Parsons MW, Barber PA, Desmond PM, Baird TA, Darby DG, Byrnes G, Tress BM, Davis SM. Acute hyperglycemia adversely affects stroke outcome: a magnetic resonance imaging and spectroscopy study. *Ann Neurol* 2002, 52:20-28.

Pentelényi T. Significance of endocrine studies in the general assessment and prediction of fatal outcome in head injury. *Acta Neurochir Suppl (Wien)* 1992, 55:21-24.

Peraldi P, Hotamisligil GS, Buurman WA, White MF, Spiegelman BM. Tumor necrosis factor (TNF)-alpha inhibits insulin signaling through stimulation of the p55 TNF receptor and activation of sphingomyelinase. *J Biol Chem* 1996, 271:13018-22.

Pertz H, Eich E. Ergot alkaloids and their derivatives as ligands for serotonergic, dopaminergic, and adrenergic receptors, in *Ergot – The Genus Claviceps*. Křen V, Cvak L. OPA N.V.1999, Amsterdam, s. 411-435.

Peters A, Schweiger U, Fruhwald-Schultes B, Born J, Fehm HL. The neuroendocrine control of glucose allocation. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2002, 110:199-211.

Petit F, Jarrous A, Dickinson RD, Molina PE, Abumrad NN, Lang CH. Contribution of central and peripheral stimulation to IL-1 alpha-mediated glucoregulation. *Am J Physiol* 1994, 267:49-56.

Pfefferkorn T, Rosenberg GA. Closure of the blood-brain-barrier by matrix metalloproteinase inhibition reduces rt-PA-mediated mortality in cerebral ischemia with delayed reperfusion. *Stroke* 2003, 34:2025-2030.

Phan TG, Wright PM, Markus R, Howells DW, Davis SM, Donnan GA. Salvaging the ischemic penumbra: more than just reperfusion? *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2002, 29:1-10.

Povýšil C, Šteiner I, Dušek P a kol. Speciální patologie III. díl, Karolinum 2003, Praha, s. 31.

Preiser JC, Devos P, Van den Berghe G. Tight control of glycaemia in critically ill patients. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2002, 5:533-537.

Pulvirenti L, Balducci C, Piercy M, Koob GF. Characterization of effect of the partial dopamine agonist terguride on cocaine self-administration in the rat. *J Pharmacol Exp Ther* 1998, 286:1231-1238.

Qizilbash N, Lewington SL, Lopez-Arrieta JM. Corticosteroids for acute ischemic stroke. *Cochrane Database Syst Rev* 2004, 2:CD 000064.

Quast MJ, Wei J, Huang NC. Nitric oxide synthesis inhibitor NG-nitro-L-arginine methyl ester decreases ischemic damage in reversible focal cerebral ischemia in hyperglycemic rats. *Brain Res* 1995, 2:204-212.

Rami A, Rabié A, Winckler J. Synergy between chronic corticosterone treatment and cerebral ischemia in producing damage in noncalbindingergic neurons. *Exp Neurol* 1998, 2:439-446.

Rang HP, Dale NM, Ritter JM. Pharmacology. Fourth edition, Edinburgh, Churchill Livingstone 1999, s. 164-172.

Read SJ, Hirano T, Abbott DF. The state of hypoxic tissue on 18F-fluoromisonidazole positron emission tomography after ischemic stroke. *Ann Neurol* 2000, 48:228-235.

Ribo M, Molina C, Montaner J, Rubiera M, Delgado-Mederos R, Arenillas JF, Quintana M, Alvarez-Sabin J. Acute hyperglycemia state is associated with lower tPA-induced recanalization rates in stroke patients. *Stroke* 2005, 36:1705-9.

Riederer P, Danielczyk W, Suchy I, Brucke T. Terguride. *Drugs of future* 1986, 4:288-290.

Ritchie PK, Ashby M, Knight HH, Judd AM. Dopamine increases interleukin 6 release and inhibits tumor necrosis factor release from rat adrenal zona glomerulosa cells in vitro. *Eur J Endocrinol* 1996, 134: 610-616.

Roh JK, Hong SB, Yoon BW, Kim MS, Myung H. The effect of hyperglycemia on lipid peroxidation in the global cerebral ischemia of the rat. *J Korean Med Sci* 1992, 7:40-46.

Rovliás A, Kotsou S. The influence of hyperglycemia on neurological outcome in patients with severe head injury. *Neurosurgery* 2000, 46:335-342.

Rytter A, Cronberg T, Asztely F, Nemali S, Wieloch T. Mouse hippocampal organotypic tissue cultures exposed to in vitro "ischemia" show selective and delayed CA1 damage that is aggravated by glucose. *Cereb Blood Flow Metab* 2003, 23:23-33.

Řeháček Z, Sajdl P. Ergot alkaloids-chemistry, biological effect, biotechnology-bioactive molecules 1990, citováno podle: Eich E, Pertz H. Ergot alkaloids as lead structures for differential receptor systems. *Pharmazie* 1994, 49:867-877.

Schurr A. Lactate, glucose and energy metabolism in the ischemic brain, *J Molecul Med* 2002, 10:131-136.

Schurr A. Bench-to-bedside review: A possible resolution of glucose paradox of cerebral ischemia. *Critical Care* 2002, 6:330-334.

Shimamura M, Sato N, Oshima K, Aoki M, Kurinami H, Waguri S, Uchiyama Y, Ogihara T, Kaneda Y, Morishita R. Novel therapeutic strategy to treat brain ischemia: overexpression of hepatocyte growth factor gene reduced ischemic injury without cerebral edema in rat model. *Circulation* 2004, 109:424-31.

Sieber FE, Martin LJ, Brown PR, Palmin SC, Traystman RC. Diabetic chronic hyperglycemia and neurologic outcome following global ischemia in dogs. *J Cereb Blood Flow Metab* 1996, 16:1230-1235.

Siesjö BK, Katsura KI, Kristián T, Li PA, Siesjö P. Molecular mechanisms of acidosis-mediated damage. *Acta Neurochir Suppl (Wien)* 1996, 66:8-14.

Sinha YN. Structural variants of prolactin: occurrence and physiological significant. *Endocrinol Rev* 1995, 16:354-369.

Sinaglia-Coimbra R, Cavalheiro EA, Coimbra C. Protective effect of systematic treatment with cyclosporine A after global ischemia in rats. *J Neurol Sci* 2002, 203-204:273-276.

Sirén AL, Fratelli M, Brines M, Goemans C, Casagrande S, Lewczuk P, Keenan S, Gleiter C, Pasquali C, Capobianco A, Mennini T, Heumann R, Cerami A, Ehrenreich H, Ghezzi P. Erythropoietin prevents neuronal apoptosis after cerebral ischemia and metabolic stress. *PNAS* 2001, 98:4044-4049.

Skolnik EY, Marcusohn J. Inhibition of insulin receptor signaling by TNF: potential role in obesity and non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Cytokine Growth Factor Rev* 1996, 7:161-173.

Song EC, Chu K, Jeong SW, Jung KH, Kim SH, Kim M, Yoon BW. Hyperglycemia exacerbates brain edema and perihematomal cell death after intracerebral hemorrhage. *Stroke* 2003, 34:2215-20.

Steingrub JS, Mundt DJ. Blood glucose and neurologic outcome with global brain ischemia. *Crit Care Med* 1996, 24:802-806.

Stephens JM, Lee J, Pilch PF. Tumor necrosis factor α - induced insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes is accompanied by a loss of insulin receptor substrate-1 and GLUT-4 expression without a loss of insulin receptor-mediated signal transduction. *J Biol Chem* 1997, 272:911-916.

Sugawara T, Fujimara M, Noshita N, Kim GW, Saito A, Hayashi T, Narasimhan P, Maier CM, Chan PH. Neuronal death/survival signaling pathways in cerebral ischemia. *Neuro Rx* 2004, 1:17-25.

Sulter G, Elting JW, De Keyser J. Increased serum neuron specific enolase concentrations in patients with hyperglycaemic cortical ischemic stroke. *Neurosci Lett* 1998, 253:71-73.

Sun Y, Jin K, Xie L, Childs J, Mao XO, Logvinova A, Greenberg DA. VEGF-induced neuroprotection, neurogenesis, and angiogenesis after local cerebral ischemia. *J Clin Invest* 2003, 111:1843-1851.

Svensson K, Eriksson E, Carlson A. Partial dopamine-receptor agonists reverse behavioral, biochemical and neuroendocrine effects of neuroleptics in the rat-potential treatment of extrapyramidal side-effects. *Neuropharmacology* 1993, 32:1037-1045.

Šeböková E, Klimeš I, Štolba P. Celulárne a molekulárne mechanizmy inzulinovej rezistencie. *Vnitř Lék* 1995, 41:75-83.

Štolc S. Hypoxicko-reoxygenačné poškodenie nervového systému a perspektívy jeho ovplyvnenia farmakami. *Čs Fyziol* 1995, 44:8-10.

Takanashi Y, Shinonaga M, Nakajima F. Relationship between hyperglycemia following head injury and neurological outcome. *No To Shinkei* 2001, 53:61-64.

Tamura A. Focal cerebral ischemia in the rat: description of technique and early neuropathological consequences following middle cerebral artery occlusion. *J Cereb Blood Flow Metab* 1981, 1:53-60.

Tolias CM, Bullock MR. Critical appraisal of neuroprotection trials in head injury: what have we learned? *NeuroRx*® 2004, 1:71-79.

Trojan S, Hrachovina V, Kittnar O, Koudelková J, Kuthan V, Langmeier M, Mareš J, Marešová D, Mourek J, Pokorný J, Sedláček J, Schreiber M, Trávníčková E, Wunsch Z. *Lékařská fyziologie*. Praha, Grada 2003, s. 199-211, 337-340.

Tuor UI. Glucocorticoids and the prevention of hypoxi-ischemic brain damage. *Neurosci Biobehav R* 1997, 2:175-179.

Tyson RL, Sutherland GR, Peeling J. ²³Na nuclear magnetic resonance spectral changes during and after forebrain ischemia in hypoglycemic, normoglycemic, and hyperglycemic rats. *Stroke* 1996, 27:59-64.

Usuda K, Inamura K, Katayama Y, Terashi A. Ischemic neuronal damage in early recovery. A morphological study on evolution of damage in hyperglycemia and normoglycemia. *Nippon Ika Daigaku Zasshi* 1996; 63:460-472.

Vannucci RC, Brucklache RM, Vannucci SJ. The effect of hyperglycemia on cerebral metabolism during hypoxia-ischemia in the immature rat. *J Cereb Blood Flow Metab* 1996, 16:1026-1033.

Vegeto E, Belcredito S, Etteri S, Ghisletti S, Brusadelli A, Meda C, Krust A, Dupont S, Ciana P, Chambon P, Maggi A. Estrogen receptor- α mediates the brain anti-inflammatory activity of estradiol. *PNAS* 2003, 100:9614-9619.

Villa P, Bigini P, Mennini T, Agnello D, Laragione T, Cagnotto A, Viviani B, Marinovich M, Cerami A, Coleman TH, Brines M, Ghezzi P. Erythropoietin selectively attenuates cytokine production and inflammation in cerebral ischemia by targeting neuronal apoptosis. *J Exp Med* 2003, 198:971-975.

Voll CL, Auer RN. Posts ischemic seizures and necrotizing ischemic brain damage: neuroprotective effect of posts ischemic diazepam and insulin. *Neurology* 1991, 3:423-428.

Wachtel H, Dorrow R. Dual action on central dopamine function of transdihydrolysuride (terguride), a 9, 10-dihydrogenated analogue of the ergot dopamine agonist lisuride. *Life Science* 1983, 32:421-432.

Warner DS, Todd MM, Dexter F, Ludwig P, McAllister AM. Temporal thresholds for hyperglycemia-augmented ischemic brain damage in rats. *Stroke* 1995, 26:655-60.

Wass CT, Lanier WL. Glucose modulation of ischemic brain injury: review and clinical recommendations. *Mayo Clin Proc* 1996, 71:801-812.

Wass CT, Scheithauer B, Bronk J, Wilson R, Lanier W. Insulin treatment of corticosteroid-associated hyperglycemia and its effect on outcome after forebrain ischemia in rats. *Anesthesiology* 1996, 3:644-651.

Watanabene T, Yuki S, Egawa M, Nishi H. Protective effect of MCI-186 on cerebral ischemia: possible involvement of free radical scavenging and antioxidant. *J Pharmacol Exp Ther* 1994, 3:1597-1604.

Wei J, Huang NC, Quast MJ. Hydroxyl radical formation in hyperglycaemic rats during middle cerebral artery occlusion/reperfusion. *Free Radic Med* 1997, 23:986-995.

Wei J, Quast MJ. Effect of nitric oxide synthase inhibitor on a hyperglycemia rat model of reversible focal ischemia: detection of excitatory amino acids release and hydroxy radical formation. *Brain Res* 1998, 1-2:146-156.

Williams LS, Rotich J, Qi R, Fineberg N, Espay A, Bruno A. Effects of admission hyperglycemia on mortality and costs in acute ischemic stroke. *Neurology* 2002, 59:67-71.

Wu D. Neuroprotection in experimental stroke with targeted neurotrophins. *NeuroRx*® 2005, 2:120-128.

Xu L, Fagan SC, Waller JL, Edwards D, Borlongan CV, Zheng J, Hill WD, Feuerstein G, Hess DC. Low dose intravenous minocycline is neuroprotective after middle cerebral artery occlusion-reperfusion in rats. *BMC Neurol* 2004, 4(7), <http://www.biomedcentral.com/1471-2377/4/7>.

Yager JY, Thornhill JA. The effect of age on susceptibility to hypoxic-ischemic brain damage. *Neurosci Biobehav R* 1997, 21:167-174.

Yepes M, Sandkvist M, Moore EG, Bugge TH, Strickland DK, Lawrence DA. Tissue-type plasminogen activator induces opening of the blood-brain-barrier via the LDL-receptor-related protein. *J Clin Invest* 2003, 112:1533-1540.

Zamrazil V, Vondra K, Šimečková A. Časná stadia diabetes mellitus. Praha, Maxdorf 1997, s. 19-52.

Zhang L, Nair A, Krady K, Corpe C, Bonneau RH, Simpson IA, Vannucci SJ. Estrogen stimulates microglia and brain recovery from hypoxia-ischemia in normoglycemic but not diabetic female mice. *J Clin Invest* 2004, 113:85-95.

Zhang ZG, Zhang L, Jiang Q, Zhang R, Davies K, Powers C, Bruggen N, Chopp M. VEGF enhanced angiogenesis and promotes blood-brain barrier leakage in the ischemic brain. *J Clin Invest* 2000, 106:829-838.

Zhu CZ, Auer RN. Optimal blood glucose levels while using insulin to minimize the size of infarction in focal cerebral ischemia. *J Neurosurg* 2004, 4:664-8.

Zovein A, Flowers-Ziegler J, Thamotharan S, Shin D, Sankar R, Nguyen K, Gambhir S, Devaskur SU. Postnatal hypoxic-ischemic brain injury alters mechanisms mediating neuronal glucose transport. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004, 286:273-82.

Zygun DA, Steiner LA, Johnston AJ, Hutchinson PJ, Al-Rawi PG, Chatfield D, Kirkpatrick PJ, Gupta AK. *Neurosurgery* 2004, 55:877-871.

9. Publikační činnost

Publikace vztahující se k tematiku disertační práce:

Publikace in extenzo:

1. **Kudláčková Z**, Hronek M. Hladina glykémie – ukazatel závažnosti ischemického poškození mozku – I. Preklinické studie. Diabetologie Metabolismus Endokrinologie Výživa 2001, 4(4):287-293.
2. **Kudláčková Z**, Hronek M. Hladina glykémie – ukazatel závažnosti ischemického poškození mozku – II. Klinické studie a hypotézy vysvětlující mechanismus vzniku poškození mozku působením hyperglykémie při hypoxicko/ischemickém poškození mozku. Diabetologie Metabolismus Endokrinologie Výživa 2001, 4(4):293-298.
3. **Kudláčková Z**, Golda V. Effects of Terguride treatment on glucose abnormalities induced by ischemic brain damage in SHR/N-cp lean rats of Koletsky strain and in rats of Wistar strain. Brat Medical J 2004, 105(10-11):353-358.
4. **Kudláčková Z**, Kottová M, Hronek M. Vliv hladiny glykémie na nezralou mozkovou tkáň během hypoxicko-ischemického a traumatického poškození mozku. Diabetologie Metabolismus Endokrinologie Výživa 2005, 8(2):63-69.

Abstrakta:

5. **Kudláčková Z**, Golda V, Hronek M. Glucose abnormalities induced by oligemic brain hypoxia in SHR/N-cp lean rats of Koletsky strain and in rats of Wistar strain and effects of Terguride treatment. Physiol Res 2004, 53(4):19.

Ostatní publikační činnost:

6. Hronek M, **Kudláčková Z**. Morphology and Physiology. Human Histology for Pharmacists. Skripta UK FaF, Hradec Králové, 2000, 72.
7. Hronek M, Miturová K, **Kudláčková Z**, Beranová E. Význam příjmu jodu v období těhotenství – suplementace jodem a její možná rizika. Čes Gynek 2001, 66(3):199-202.
8. Hronek M, Kyzourová M, **Kudláčková Z**. Význam kyseliny listové pro snížení rizika výskytu defektů neurální trubice (DNT). Gynekolog 2001, 10(6):242-245.
9. Hronek M, **Kudláčková Z**, Semecký V. Praktická cvičení z fyziologie pro posluchače Farmaceutické fakulty. Karolinum, Praha, 2001, 141, ISBN 80-246-0439-6, 141.
10. Hronek M, Kyzourová M, **Kudláčková Z**. Význam příjmu nenasycených mastných kyselin v prekoncepčním období a v graviditě. Gynekolog 2002, 11(4):212-215.

11. Hronek M, Beranová E, Miturová K, Tošner J, **Kudláčková Z**. Dietary intake of calcium, magnesium and phosphorus in comparison with nutritional, biochemical and birth parameters of pregnant women: longitudinal study. *Physiol Res* 2004, 53(4):12.
12. Hronek M, **Kudláčková Z**. Nutriční rizika v obdobích gravidity a laktace. Přednáška publikovaná in extenzo ve *Výživa a zdraví* 2004, str. 60 – 65.
13. Hronek M, **Kudláčková Z**, Nekvindová J. Probiotika a prebiotika v profylaxi a terapii poruch GIT a v prevenci karcinogeneze. *Praktické lékařství* 2005, 1:41- 42.
14. Hronek M, **Kudláčková Z**. Deficitní příjem nutrietů a z něho vyplývající zdravotní komplikace u vegetariánek v období gravidity a laktace. *Čes Gynek* 2005, 70(2):161-164.
15. Hronek M, Vachtlová D, **Kudláčková Z**, Jílek P. Antifugální účinek u vybraných přírodních látek a probiotik, jejich možnosti použití v profylaxi vulvovaginitidy. *Čes Gynek* 2005, 70(5):395-399.