

I. SOUHRN

ÚVOD: Železo je nezbytným prvkem pro celou řadu fyziologických procesů, mj. přenos kyslíku, syntézu DNA a tvorbu ATP. Osud železa v organismu je pečlivě regulován zejména na úrovni absorpce a distribuce pravděpodobně z důvodu neexistujícího specifického aktivního exkretčního mechanismu pro železo. Každé porušení homeostázy železa může vést k objevení se volného (nevázaného nebo slabě vázaného) železa, které je schopno katalyzovat tvorbu reaktivních forem kyslíku (ROS) prostřednictvím Haber-Weissova mechanismu.

Kardiovaskulární onemocnění, zejména pak ischemická choroba srdeční (ICHS), zůstávají přes recentní vědecké pokroky vážným medicínálním problémem. Nejzávažnější formou ICHS je akutní infarkt myokardu (AIM). Jeho patofyziologie zahrnuje ve většině případů iniciální ischemickou periodu v důsledku poruchy koronárního krevního proudu způsobeného trombózou nasedající obvykle na ateroskleroticky postiženou koronární tepnu. Ischémie podstatně mění tkáňovou homeostázu s následným objevením se volného cytosolického železa. Obnova koronárního krevního průtoku (tzv. reperfúze) je jedinou možností k záchraně poškozeného myokardu, je ale na druhé straně spojena s uvolněním zmíněného volného železa do cirkulace a tvorbou ROS jak uvnitř tak vně buňky.

Chelátory železa představují rozsáhlou skupinu léčiv s rozmanitou strukturou. Tradičně se používají jako ochranné látky v patologických podmínkách spojených se zvýšenou tvorbou ROS v důsledku katalytického působení železa (např. u thalasemických pacientů léčených krevními transfúzemi a při prevenci antracyklinové kardiotoxicity). Vzhledem ke zmíněnému zapojení železa v patogenezi AIM, mohou být látky s želeto chelatační aktivitou užitečné v prevenci infarktového poškození myokardu. Jedinou látkou, která byla testována v této indikaci na

oklusivních modelech AIM byl deferoxamin. Publikované výsledky jsou bohužel značně nesourodé.

Cíl studie a metodologie: Tato studie směřovala ke zjištění účinků látek s železo chelatační aktivitou na katecholaminový model AIM. Pro tento účel byl využit syntetický katecholamin isoprenalin (ISO) s neselektivním β -agonistickým účinkem v dávce 100 mg.kg^{-1} s.c., který vyvolává patologický stav v mnoha aspektech blížký AIM. Han:Wistar potkani byli premedikováni i.v. následujícími látkami: deferoxamin mesylát (50 mg.kg^{-1}), ekvivalentními dávkami 2-pyridylkarboxaldehyd-2-thiofenekarboxyl hydrazonu (PCTH, 20.4 mg.kg^{-1}), rutinu (46 mg.kg^{-1}) a laktoferinem v dávce 50 mg.kg^{-1} vždy 5 minut před podáním ISO. Pro stanovení dávkové závislosti byly podány i nižší dávky PCTH (10.2 mg.kg^{-1}) a rutinu ($11,5 \text{ mg.kg}^{-1}$). Za 24 hodin po aplikaci léčiv byla zvířata anestetizována za pomoci uretanu ($1,2 \text{ g.kg}^{-1}$ i.p.). Jejich srdeční funkce byla stanovena pomocí různých parametrů prostřednictvím termodiluční metody za použití přístroje Cardiosys[®] (Experimetria Ltd.[®], Maďarsko). Krev byla odebrána pro stanovení biochemických markerů a srdce vyjmuto pro zvážení srdečních komor, analýzu iontů a histopatologické vyšetření.

Výsledky: Podání ISO bylo spojeno s 30% mortalitou, snížením srdečního výdeje, tachykardií, zvýšením periferní cévní resistance, masivním uvolněním srdečního troponinu T (cTnT) do cirkulace, vzestupem vlhké hmotnosti komor, přesycením myokardu vápníkem a zjevnými patologickými abnormalitami v histologickém nálezu za 24 hodin v porovnání s kontrolními potkany. Naopak nebyly nalezeny statisticky významné změny v plasmatických hladinách malonyldialdehydu (měřeného jako TBARS), koncentracích vitamínu

C v plasmě, celkového glutationu v krvi, enzymatické aktivity antioxidantních enzymů v červených krvinkách (GPx a SOD) a koncentraci zinku, selénu a železa v srdeční tkáni.

Podání deferoxaminu nebylo spojeno s žádným ochranným vlivem na ISO-poškození. Naopak PCTH v ekvimolární dávce k deferoxaminu vedl k 100% přežití takto premedikovaných zvířat, významně snížil uvolnění cTnT a částečně redukoval vzestup vlhké hmotnosti komor po podání ISO. Ostatní parametry nebyly příznivě ovlivněny PCTH, je ale nutno zmínit, že některé jeho účinky mohly být zamaskovány při jeho podání v 20% vodném roztoku propylenglykolu, který sám vedl k určitému zhoršení myokardiální funkce (např. pokles srdečního výdeje).

Jak laktoferin tak rutin zablokoval vzestup periferní rezistence po podání ISO. Přes tento pozitivní účinek rutin spíše zhoršoval katecholaminové poškození myokardu. Vyšší dávka rutinu zvýšila mortalitu na 53% a současně prokázala tendenci k potenciaci uvolnění cTnT a zesílení přesycení myokardu vápníkem. Kromě toho, ze všech testovaných látek s železo chelatační aktivitou jen rutin ve vyšší dávce statisticky významně zvýšil myokardiální koncentrace vápníku i u kontrolních zvířat, kromě toho vedl k dávkově závislému poklesu hladiny zinku v myokardu. Mimo pozitivního účinku laktoferinu na periferní resistenci, laktoferin byl také schopen inhibovat pokles srdečního výdeje způsobený ISO a současně částečně omezit přesycení buněk vápníkem.

Diskuze a závěr: Tato studie je první svého druhu, které poukázala, že chelátory železa jsou schopny alespoň částečně snížit poškození způsobená katecholaminy a z tohoto důvodu i pravděpodobně ochránit myokard před následky AIM. Neúspěch těchto chelátorů železa úplně zabránit projevům katecholaminové kardiotoxicity závisí pravděpodobně na komplexnosti patofyziologie tohoto poškození, která není úplně pochopená. Je známo, že zahrnuje minimálně dva hlavní mechanismy – nadměrnou stimulaci β -adrenoreceptorů a tvorbu ROS v důsledku jak

uvolnění železa tak katecholaminů samotných. Lipofilní chelátor PCTH částečně inhiboval toto poškození asi v důsledku toho, že je schopen snížit následky zvýšených hladin železa nejen intravaskulárně ale také intracelulárně. Naopak hydrofilní, v terapii standardně používaný, chelátor deferoxamin neměl žádný vliv na dané poškození. Tělu vlastní hydrofilní chelátor železitých iontů laktoferin měl určitý pozitivní účinek na toto poškození, který byl pravděpodobně zprostředkován chelatací extracelulárního železa (periferní rezistence, snížení přesycení vápníkem) a/nebo jiným neznámým mechanismem. Rutin naproti tomu spíše zhoršuje ve vyšší dávce toto poškození. Důvody k tomu mohou být: i) jeho navržené pro-oxidativní vlastnosti; ii) vzestup hladin vápníku v myokardu, které mohou zvýšit fyziologicky inotropii, ale v případě patologických stavů vést naopak k akutnímu srdečnímu selhání nebo arytmiím.