Mgr Monika Kloza

Streszczenie rozprawy doktorskiej „Wpływ nadciśnienia oraz przewlekłego podawania inhibitora FAAH URB597 na zależną od śródbłonka hiperpolaryzację i rozkurcz małych tętnic krezkowych szczura”

Nadciśnienie tętnicze to przewlekła choroba cywilizacyjna, która może prowadzić m.in. do udaru mózgu czy zawału serca. Modelem zwierzęcym odzwierciedlającym zmiany w układzie sercowo-naczyniowym nadciśnienia pierwotnego u ludzi są SHR (spontaneously hypertensive rat), z kolei model DOCA-salt (szczury Wistar poddane jednostronnej nefrektomii, którym podskórnie podawano octan deoksykortykosteronu [DOCA] oraz dietę wysokosodową w postaci 1% roztworu NaCl przez 6 tygodni) to powszechnie uznany farmakologiczny model nadciśnienia wtórnego, odzwierciedlający rolę soli i stresu w patogenezie nadciśnienia tętniczego u ludzi. W naczyniach o funkcji oporowej istotną rolę w regulacji tonu naczyniowego pełni hiperpolaryzacja zależna od śródbłonka (EDH). Klasyczną drogą działania EDH jest aktywacja śródbłonkowych kanałów potasowych zależnych od jonów Ca2+ (KCa) o małym (KCa2.3) i średnim przewodnictwie (KCa3.1), m.in. w wyniku pobudzenia przez niektóre ligandy endogenne (acetylocholinę [Ach] przy zahamowaniu syntazy tlenku azotu [ester metylowy Nω-nitro-L-argininy] oraz cyklooksygenazy [indometacyna]) lub syntetyczne aktywatory kanałów potasowych KCa2.3 i KCa3.1 (NS309, SKA-31). Prowadzi to do hiperpolaryzacji śródbłonka, a następnie komórek mięśni gładkich naczyń krwionośnych przez zawarte w ich błonie wewnątrzprostownicze kanały potasowe (KIR) oraz pompę sodowo-potasową (Na+/K+-ATP-aza). W konsekwencji dochodzi do rozkurczu naczyń krwionośnych. Sugeruje się, że endokannabinoidy (w tym anandamid i/lub jego metabolity powstałe w wyniku rozkładu przez hydrolazę amidową kwasu tłuszczowego [FAAH]) również odgrywają rolę w regulacji napięcia ściany naczyniowej w nadciśnieniu, w tym za pośrednictwem odpowiedzi zależnej od EDH. Dysfunkcja skurczowo-rozkurczowa naczyń krwionośnych może wystąpić już we wczesnym etapie rozwoju nadciśnienia tętniczego i prowadzić do upośledzonej wazorelaksacji, w tym zależnej od KCa2.3/KCa3.1- EDH, co może wywołać wzrost ciśnienia krwi. Biorąc powyższe pod uwagę celem niniejszej pracy było zbadanie w izolowanych tętnicach krezkowych G3 (tj. trzecim odgałęzieniu od tętnicy krezkowej górnej) szczura: 1/ wpływu pierwotnego i wtórnego nadciśnienia tętniczego na odpowiedź rozkurczową zależną od KCa2.3/KCa3.1-EDH, w tym działania aktywatorów kanałów potasowych KCa2.3/KCa3.1 - NS309 i/lub SKA-31, 2/ wpływu chronicznego podawania URB597 (inhibitora FAAH) na odpowiedź rozkurczową zależną od KCa2.3/KCa3.1-EDH w modelu DOCA-salt.

Czynność rozkurczową badano na tętnicach krezkowych G3, skurczonych uprzednio agonistą receptorów α1-adrenergicznych fenylefryną, wyizolowanych od szczurów SHR oraz DOCA-salt i odpowiednich grup kontrolnych, czyli WKY (Wistar Kyoto) i Wistar. URB597 (1 mg/kg co 12 h), hamujący FAAH, podawano dootrzewnowo szczurom DOCA-salt przez 2 tygodnie. Efekty hemodynamiczne oceniano po podaniu SKA-31 w modelu szczura uśpionego SHR. Do oceny ekspresji składowych szlaku KCa2.3/KCa3.1-EDH zastosowano metody immunohistochemiczne, Western blot oraz real-time quantitative PCR. Odpowiedź zależna od EDH indukowana Ach była nasilona u szczurów DOCAsalt lub pozostawała na niezmienionym poziomie pod wpływem NS309 (DOCA-salt) i SKA-31 (SHR) w porównaniu do odpowiedniej kontroli. Mechaniczne usunięcie śródbłonka oraz podanie łączne i/lub oddzielne inhibitorów KCa2.3 i KCa3.1 osłabiało reakcję EDH indukowaną SKA-31 i NS309 niezależnie od modelu nadciśnienia tętniczego, jak i w grupach kontrolnych. Silniejszy efekt hamujący uzyskano przy zablokowaniu KCa3.1. Dodatkowo hamowanie KIR i Na+/K+-ATP-azy (odpowiednio, jony Ba2+ i oubaina), zredukowało odpowiedź rozkurczową SKA-31 u szczurów SHR i kontrolnych. Inkubacja SKA-31 (0.1 µM) poprawiała zależne od śródbłonka działanie rozkurczowe Ach w izolowanych tętnicach krezkowych G3 jedynie u szczurów SHR. Odpowiedź zależna od EDH u szczurów DOCA-salt poddanych chronicznej suplementacji URB597 była porównywalna do reakcji uzyskanej w kontroli. U szczurów uśpionych SHR i kontrolnych SKA-31 zależnie od dawki obniżał ciśnienie krwi, a w dawce 10 mg/kg prowadził do bradykardii. Badania biochemiczne potwierdziły lokalizację kanałów KCa3.1 oraz KCa2.3 w śródbłonku badanych naczyń i wykazały ich zmniejszoną ekspresję na poziomie białka i mRNA w modelu nadciśnienia tętniczego DOCA-salt i SHR oraz zwiększoną ekspresję KCa3.1 u szczurów otrzymujących przewlekle URB597. Podsumowując należy stwierdzić, że kanały potasowe KCa3.1 i KCa2.3 niezależnie od modelu nadciśnienia tętniczego są zaangażowane w odpowiedź EDH indukowaną Ach, NS309, SKA-31 w izolowanych tętnicach krezkowych G3 przy znaczącej roli śródbłonka i KCa3.1. Pomimo obniżonej ekspresji tych kanałów, mogą głównie stanowić o kontroli napięcia naczyniowego. Odpowiedź KCa2.3/KCa3.1-EDH pełni rolę kompensacyjną przy dysfunkcji śródbłonka i niedoborach tlenku azotu, które występują w modelu SHR i DOCA-salt. SKA-31 wykazuje korzystny wpływ na funkcję śródbłonka w nadciśnieniu tętniczym oraz obniża ciśnienie krwi i częstość akcji serca.

Hipotensyjny efekt wywołany przez przewlekłe hamowanie FAAH w modelu DOCAsalt nie powoduje zmian w regulacji odpowiedzi KCa2.3/KCa3.1-EDH, chociaż podwyższa poziom białka kanału potasowego KCa3.1. Wprowadzenie aktywatorów szlaku KCa2.3/KCa3.1-EDH jako uzupełnienie terapii leczenia nadciśnienia tętniczego lub innych chorób z dysfunkcją śródbłonka może okazać się korzystne dla pacjentów.