

Patrycjusz Kołodziejczyk
streszczenie rozprawy doktorskiej
18.12.2021

Aldosteron, główny hormon mineralokortykoidowy, odgrywa kluczową rolę w regulacji homeostazy elektrolitów i ciśnienia krwi. W ostatnim czasie coraz większe zainteresowanie wzbudza patologiczne działanie aldosteronu w układzie sercowo-naczyniowym. Zwraca się uwagę na korelację pomiędzy podwyższonym poziomem aldosteronu a zwiększonym ryzykiem występowania incydentów sercowo-naczyniowych. Wykazano m.in., że aldosteron nasila procesy włóknienia, doprowadza do dysfunkcji śródbłonna naczyń i zaburzeń fibrynolitycznych, nasila stres oksydacyjny oraz działa prozapalnie. Efekty te wynikają z wielokierunkowego wpływu aldosteronu na procesy profibrotyczne, prozapalne, prooksydacyjne i prozakrzepowe w różnych strukturach organizmu. Niekorzystne działanie aldosteronu może zatem prowadzić do rozwoju i progresji różnych chorób układu krążenia.

Aldosteron w organizmie człowieka może działać w sposób złożony poprzez różne mechanizmy, wśród których najważniejszą rolę odgrywa jego interakcja z receptorem mineralokortykoidowym (MR). Wiedza na temat rozmieszczenia i roli tych receptorów w układzie sercowo-naczyniowym jest wciąż niepełna. Jeszcze mniej jest danych na temat ekspresji i znaczenia receptorów MR w przebiegu różnych stanów patologicznych, którym towarzyszą wahania poziomu aldosteronu.

Celem przedstawionych w pracy badań było określenie poziomu ekspresji receptorów MR w aorcie oraz sercu szczura w wybranych stanach patologicznych, którym towarzyszą zmiany w stężeniu aldosteronu. Ponadto, oceniono powiązanie między ekspresją receptorów MR w aorcie i sercu i stężeniem aldosteronu a zmianami o podłożu prooksydacyjnym i profibrotycznym w tych tkankach.

Eksperymenty in vivo przeprowadzono na szczurach, samcach szczepu Wistar. Aby ocenić ekspresję receptora MR w różnych stanach patologicznych u zwierząt dokonano: obustronnej adrenalectomii, następnie indukowano cukrzycę jednorazowym dootrzewnowym podaniem streptozotocyny oraz podawano aldosteron w dawce 30 µg/kg drogą dożylną w godzinnej infuzji. W celu zablokowania receptora MR zwierzęta otrzymywały eplerenon, selektywnego antagonistę receptora MR w dawce 100 mg/kg per os 30 min przed podaniem aldosteronu. Dodatkowo, przeprowadzono eksperymenty in vitro na hodowlach komórek śródbłonna (HUVEC) inkubowanych z aldosteronem w stężeniu 10^{-7} M, w warunkach normo- i hiperglikemii.

W celu określenia ekspresji receptora MR w płytkach krwi, aortach, sercach i nerkach szczurów wykonano analizę Western blot. Stężenie aldosteronu oznaczono w surowicy szczurów za pomocą metody radioimmunologicznej. Stężenie tlenku azotu (NO) oznaczono metodą kolorymetryczną na podstawie pomiaru stężenia w osoczu szczurów i nadsączu hodowli HUVEC trwałych metabolitów NO₂/NO₃. W osoczu szczurów i nadsączu hodowli HUVEC oznaczono również parametry stresu oksydacyjnego: stężenie nadtlenu wodoru (H₂O₂) metodą kolorymetryczną oraz aldehydu malonowego (MDA) metodą

immunoenzymatyczną. Ponadto, w aorcie szczurów oznaczono poziom mRNA oksydazy dinukleotydu nikotynamidoadeninowego (NADPH) i dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) metodą real-time PCR. Oznaczono także aktywność prolidazy w sercu i aorcie szczurów.

Wykazano, iż w stanach, którym towarzyszą zmiany w stężeniu aldosteronu we krwi, występowały też zmiany w ekspresji receptora MR w układzie sercowo-naczyniowym. Szczególnie widoczne było to w przypadku serca szczurów, u których indukowano cukrzycę. Cukrzyca doprowadziła do zjawiska down-regulation wyrażonego się aż kilkukrotnym spadkiem ekspresji receptora MR w sercu. Zastosowanie eplerenonu, antagonisty receptora MR, spowodowało istotne obniżenie ekspresji receptora MR, zarówno w sercu, jak i aorcie. W pracy oceniano wpływ usunięcia nadnerczy na ekspresję receptora MR w sercu i aorcie. Wykazano, że obustronna adrenalektomia nie wpłynęła istotnie na ekspresję receptora MR, zarówno w sercu, jak i aorcie.

W niniejszej pracy określono także wpływ aldosteronu i receptorów MR na równowagę oksydo-redukcyjną i aktywność prolidazy. Wykazano, że obustronne usunięcie nadnerczy znacznie obniżyło stężenie metabolitów NO w osoczu szczurów, a podanie eplerenonu, zmniejszało wpływ hormonu na biodostępność NO in vivo. Ponadto, blokada receptora MR przez eplerenon ograniczyła także indukowany aldosteronem stres oksydacyjny, co związane było ze wzrostem biodostępności NO. Wyniki eksperymentów in vitro wskazują ponadto, że zarówno hiperglikemia jak i podwyższone stężenie aldosteronu mają podobny niekorzystny wpływ na komórki śródbłónka, wyrażony zmniejszeniem biodostępności tlenu azotu i nasileniem stresu oksydacyjnego. Nie wykazano wpływu aldosteronu na tkankową aktywność prolidazy w zastosowanym układzie badawczym.

Podsumowując, w stanach patologicznych, którym towarzyszą zmiany w stężeniu aldosteronu we krwi występują zmiany w ekspresji receptora MR, zarówno w sercu jak i w aorcie. Wzrost stężenia aldosteronu we krwi prowadzi do znacznego spadku ekspresji receptora MR, co jest szczególnie zauważalne w sercu szczurów z indukowaną cukrzycą. Aldosteron poprzez aktywację receptorów MR w sercu i naczyniach krwionośnych może inicjować zmiany o podłożu prooksydacyjnym, prowadząc tym samym do rozwoju chorób sercowo-naczyniowych.