

**METABOLISMUS POJIVA
PLICNÍCH CÉV PŘI
CHRONICKÉ HYPOXII**

Jana Novotná

Hypoxie – nedostatek O_2 v krvi (srdeční nebo plicní onemocnění).

Plicní hypertenze – zvýšení krevního tlaku v plicním cévním řečišti (plicní arterie, vény, kapiláry).

Remodelace cévní stěny v periferním plicním řečišti je významným patogenetickým mechanismem vzniku všech forem plicní hypertenze.

K remodelaci dochází jak při pobytu na vysokých horách, tak u vrozených nebo získaných srdečních chorob.

Kolageny cévní stěny

Typ I a III 80%
(medie a adventicie)

Typ IV
(bazální membrány obklopující hladké svalové buňky,
podklad pro endotelie)

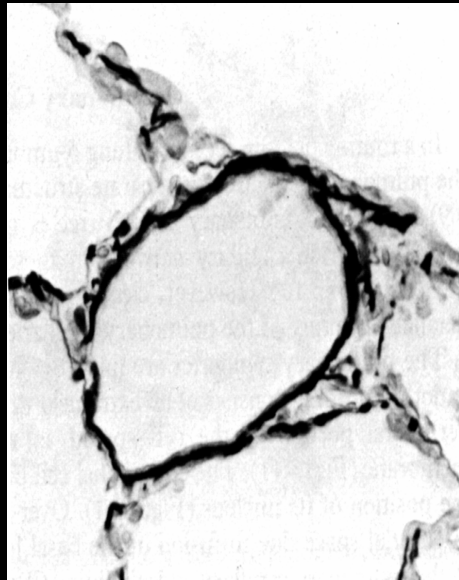
Typ V
(malé fibrily, doprovází typ I a III)

Typ VI
(organizační struktura, funkční zabezpečení velkých fibril
typu I a III)

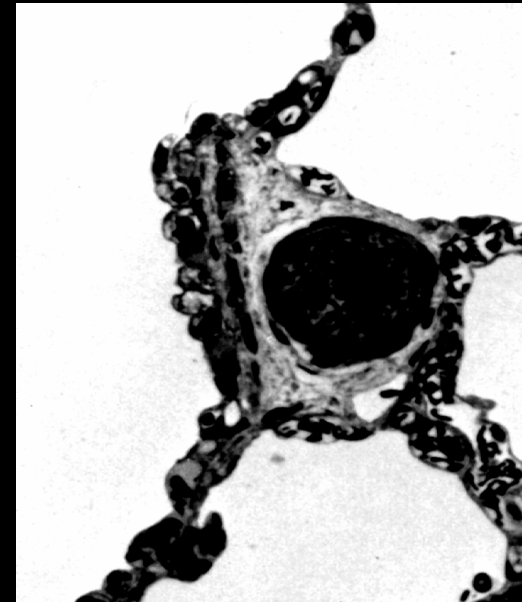
Typ VIII
(doprovází typ I a III)

CHRONICKÁ HYPOXIE PŮSOBÍ
PLICNÍ HYPERTENZI

Periferní plicní cévy při chronické hypoxické plicní hypertenzi



Normoxie



Chronická hypoxie

Proliferace VSM

Fibróza

Vazokonstrikce

Přestavba a rekonstrukce pojivové tkáně při chronické hypoxické plicní hypertenzi



Syntéza kolagenu a elastinu
Proliferace hladkého svalu



Poddajnost cévní stěny

Poškození - uvolněné radikálové sloučeniny

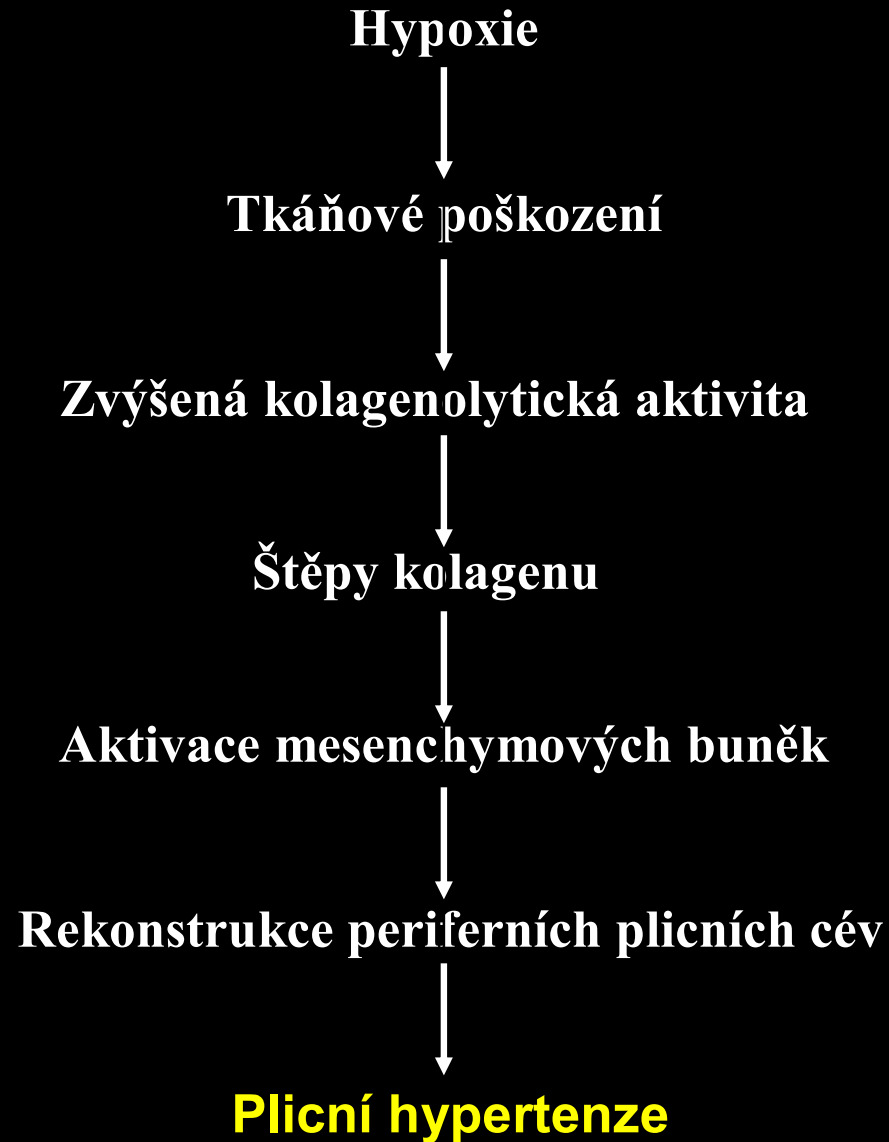
ROS

NO

peroxinitrit

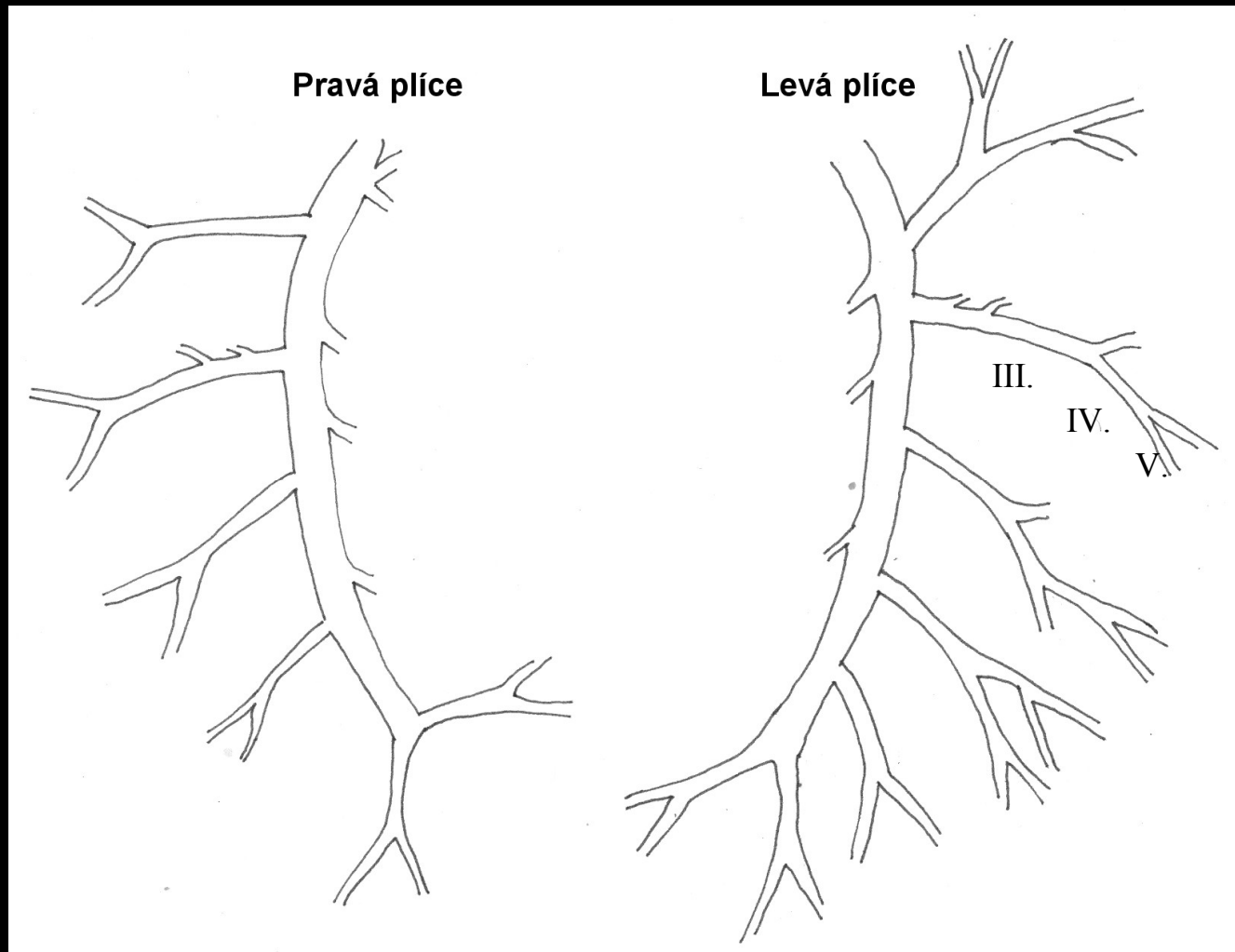
aktivace MMPs

HYPOTÉZA mechanismu remodelace stěny periferních plicních cév



*Vypracování techniky izolace
periferních plicních cév potkana*

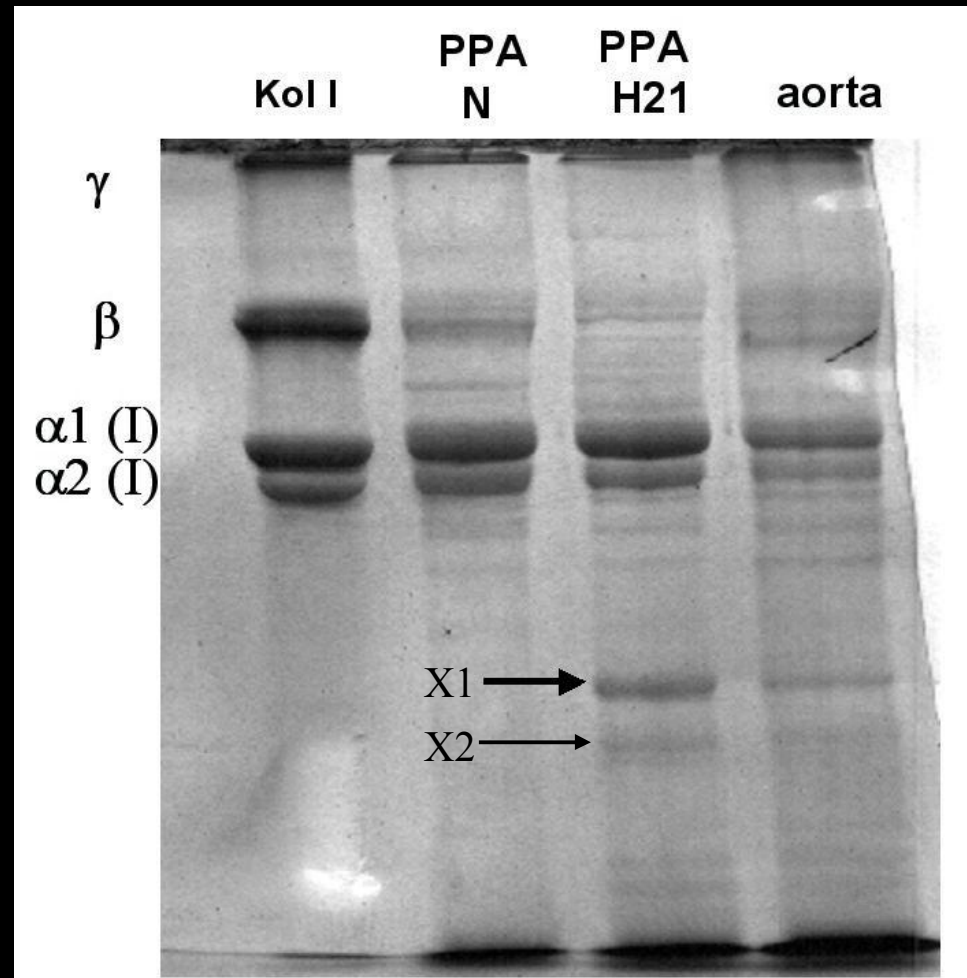
Preparace periferních plicních cév III. – V. řádu



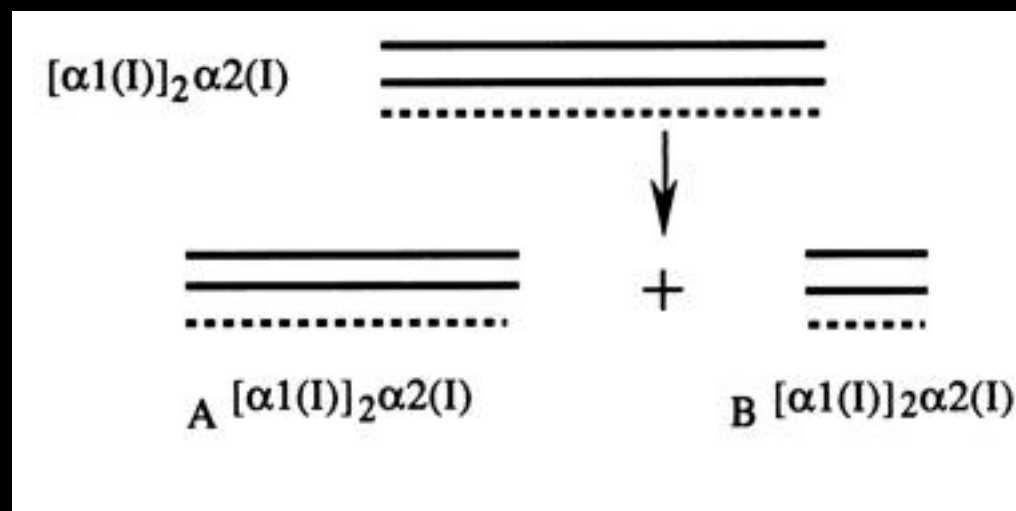
*Analýza kolagenu izolovaného
z periferních plicních cév potkanů
vystavených dlouhodobé hypoxii*

- Extrakce nekolagenních bílkovin.
- Extrakce kolagenní frakce limitovanou pepsinizací.
- Analýza kolagenu SDS polyakrylamidovou gelovou elektroforézou a pomocí imunoblotovací techniky.
- Analýza extraktů kolagenolytických enzymů pomocí zymografie.

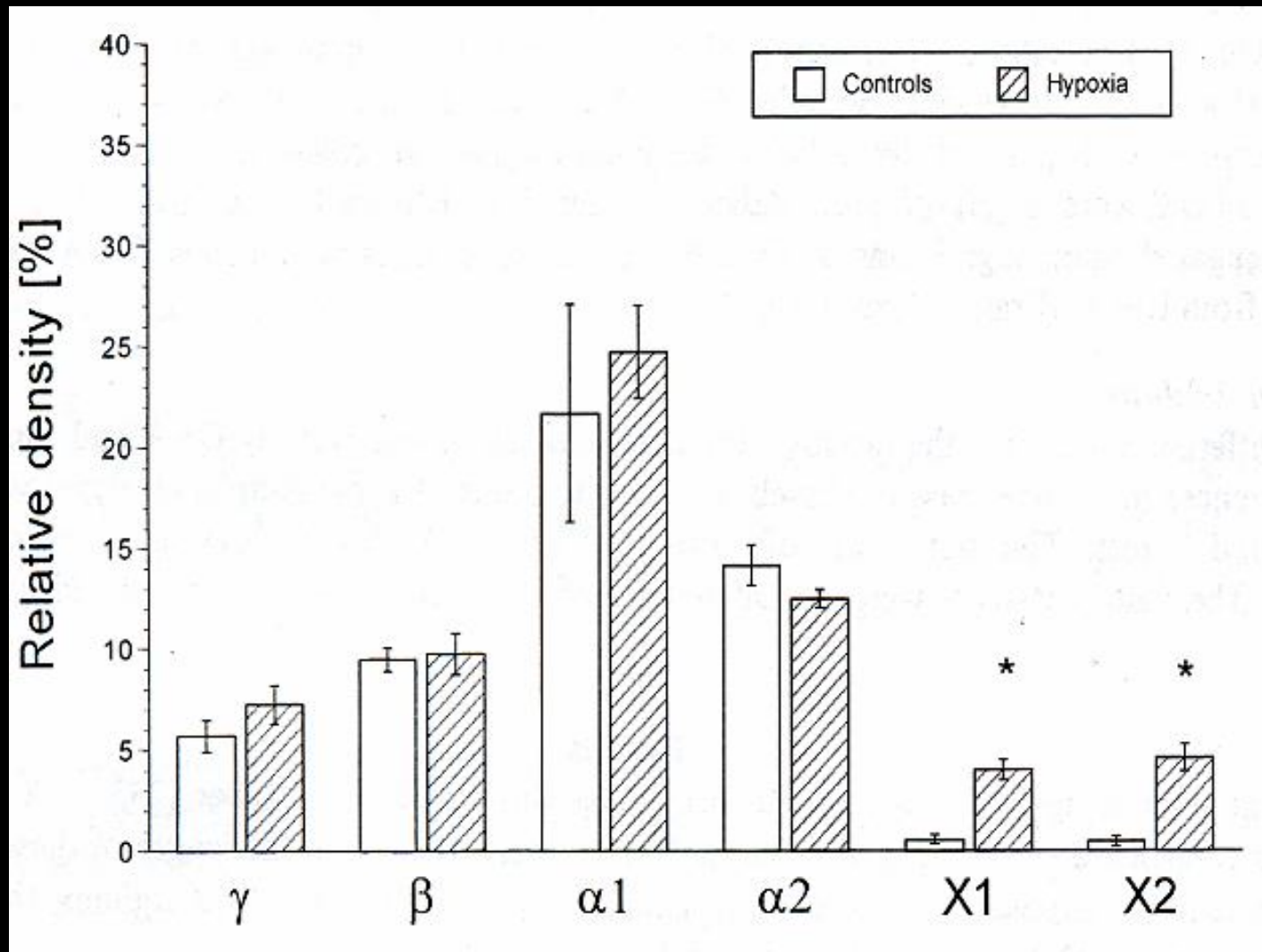
Rozdělení kolagenních peptidů pomocí SDS gelové elektroforézy



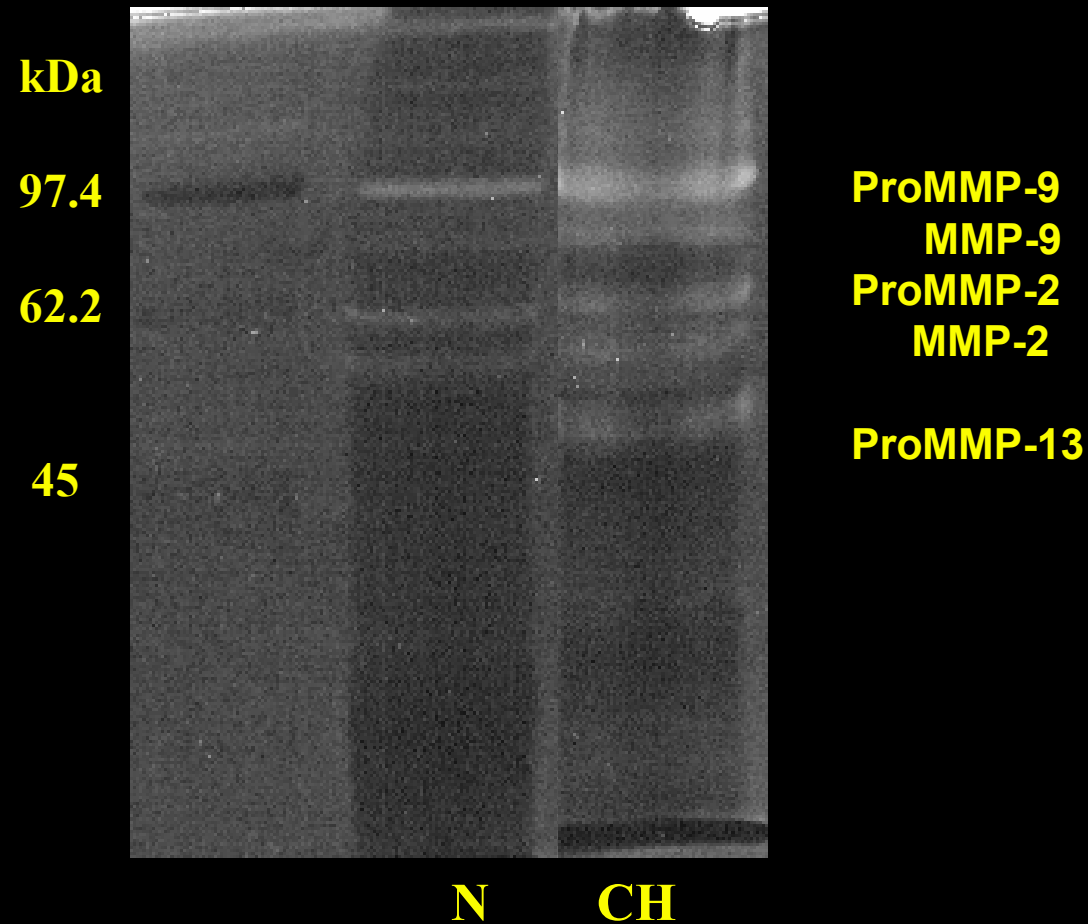
Kolagenáza štěpí kolagen mezi 775 – 776 AK zbytky (Gly – Ile/Leu)



Relativní densita peptidů kolagenních frakcí

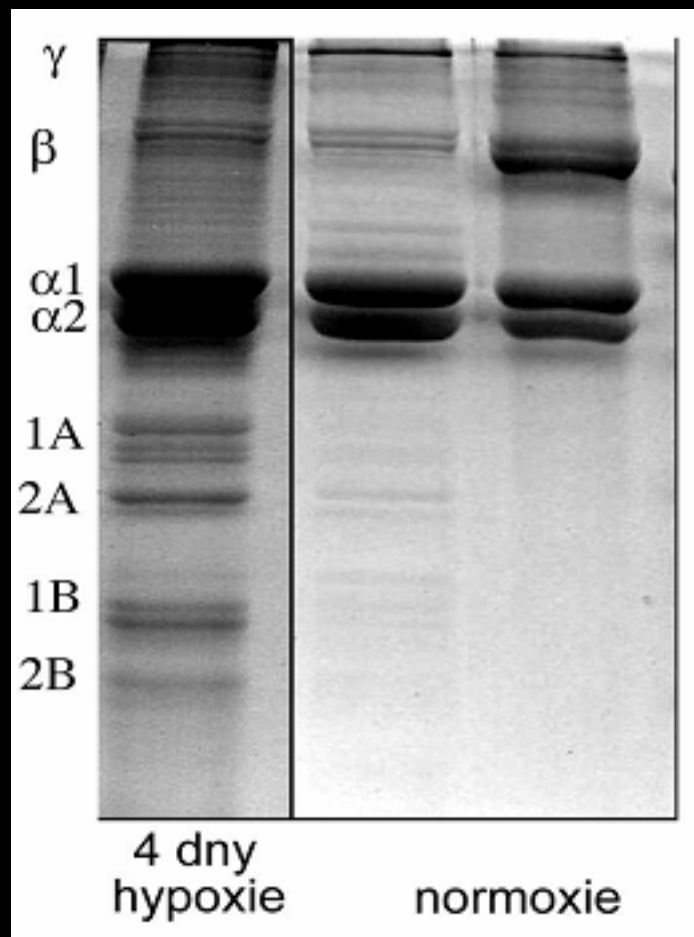


Aktivita kolagenolytických matrixových metaloproteinás stanovená v extraktech z celé plicní tkáně pomocí zymografie na želatině

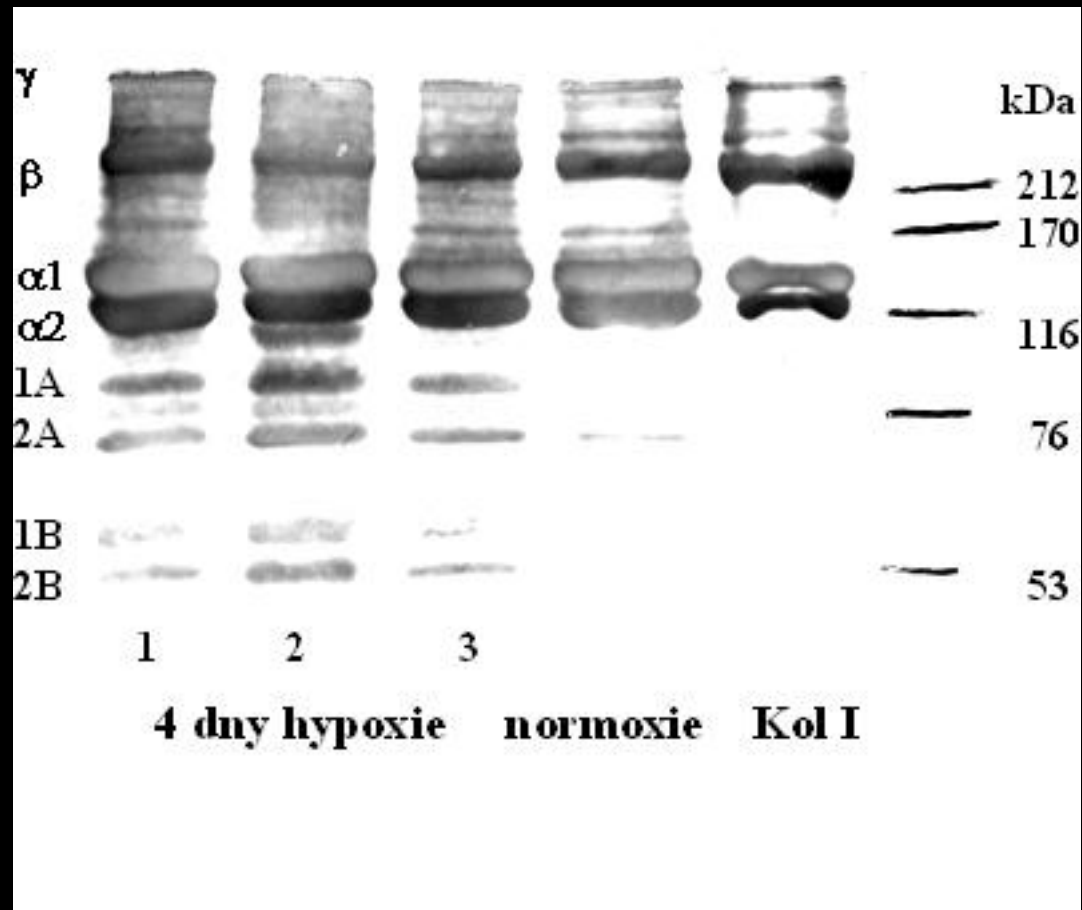


Je hypoxií vyvolaná
kolagenolytická aktivita
prokazatelná v časně fázi expozice
hypoxii?

Elektroforetický profil kolagenní frakce izolované z periferních plicních cév potkanů vystavených hypoxii 4 dny



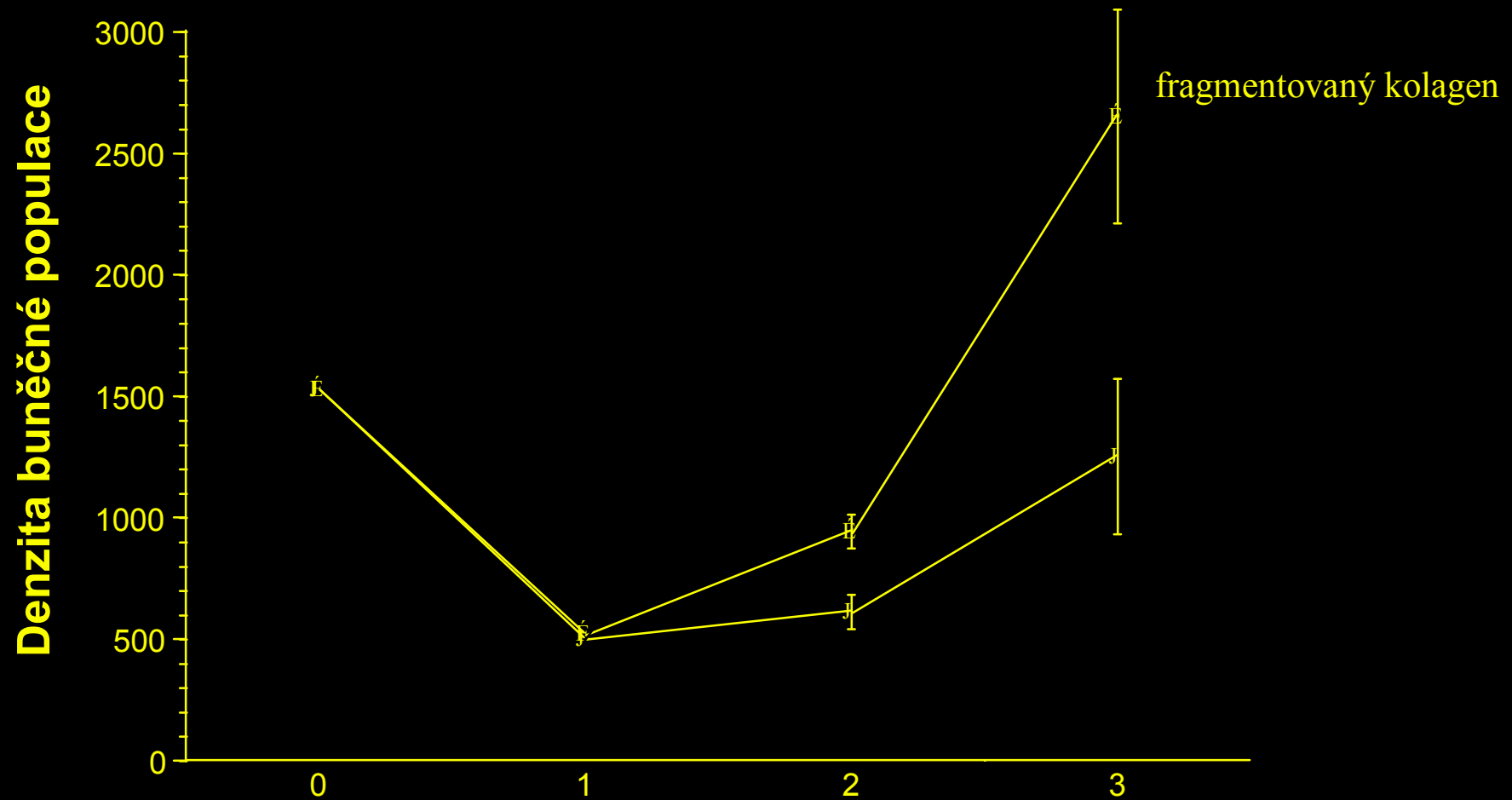
Imunoblot kolagenní frakce extrahované z periferních plicních cév potkanů vystavených hypoxii 4 dny a potkanů normoxických.



Hypoxie

1. aktivuje v periferních plicních cévách a v plicní tkáni matrixové metaloproteinasy,
2. vzniknou štěpy kolagenu,
3. štěpy kolagenu stimulují růst buněk hladkého svalu.

Vliv fragmentovaného kolagenu na proliferaci hladkého svalu „in vitro“

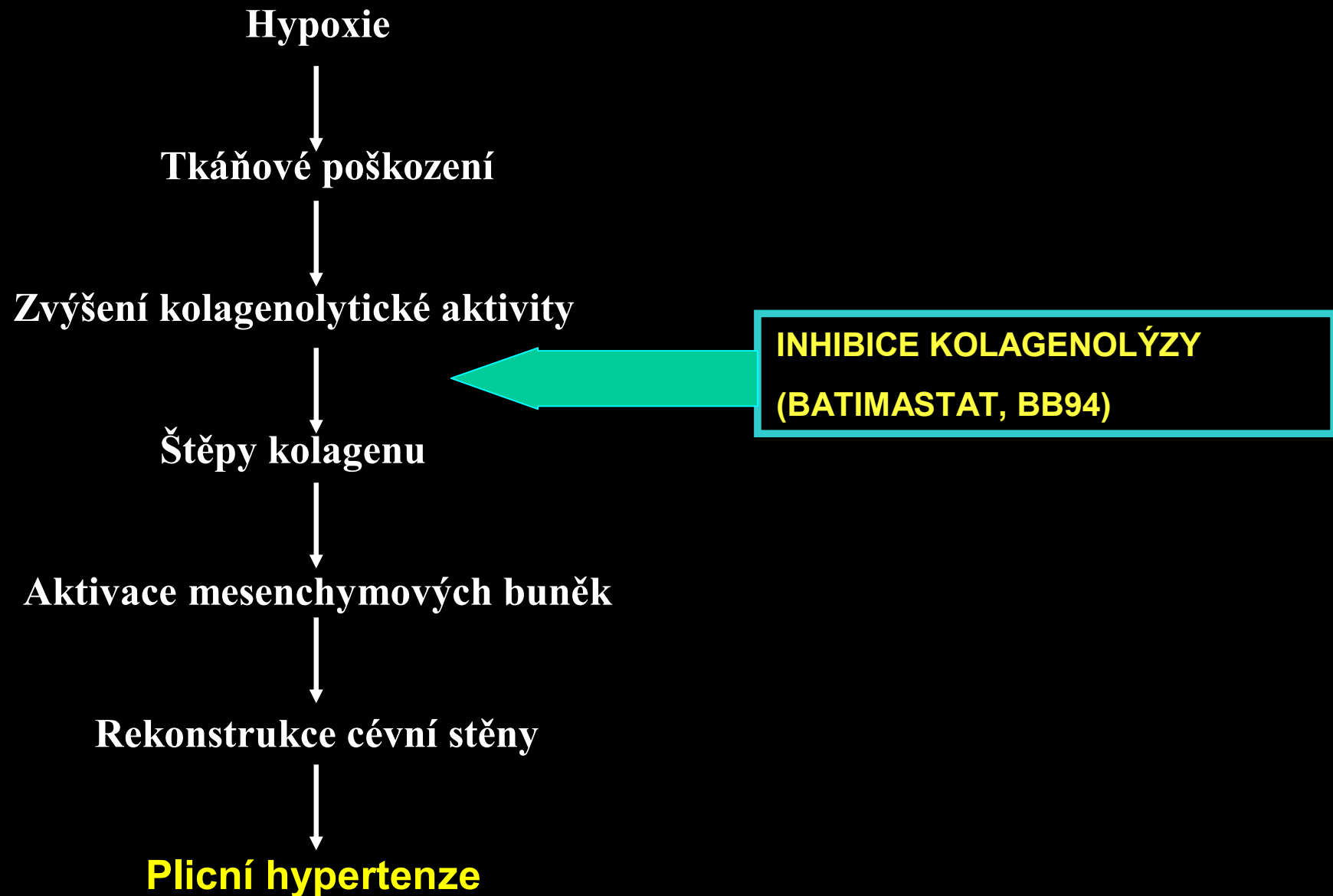


Dny pokusu

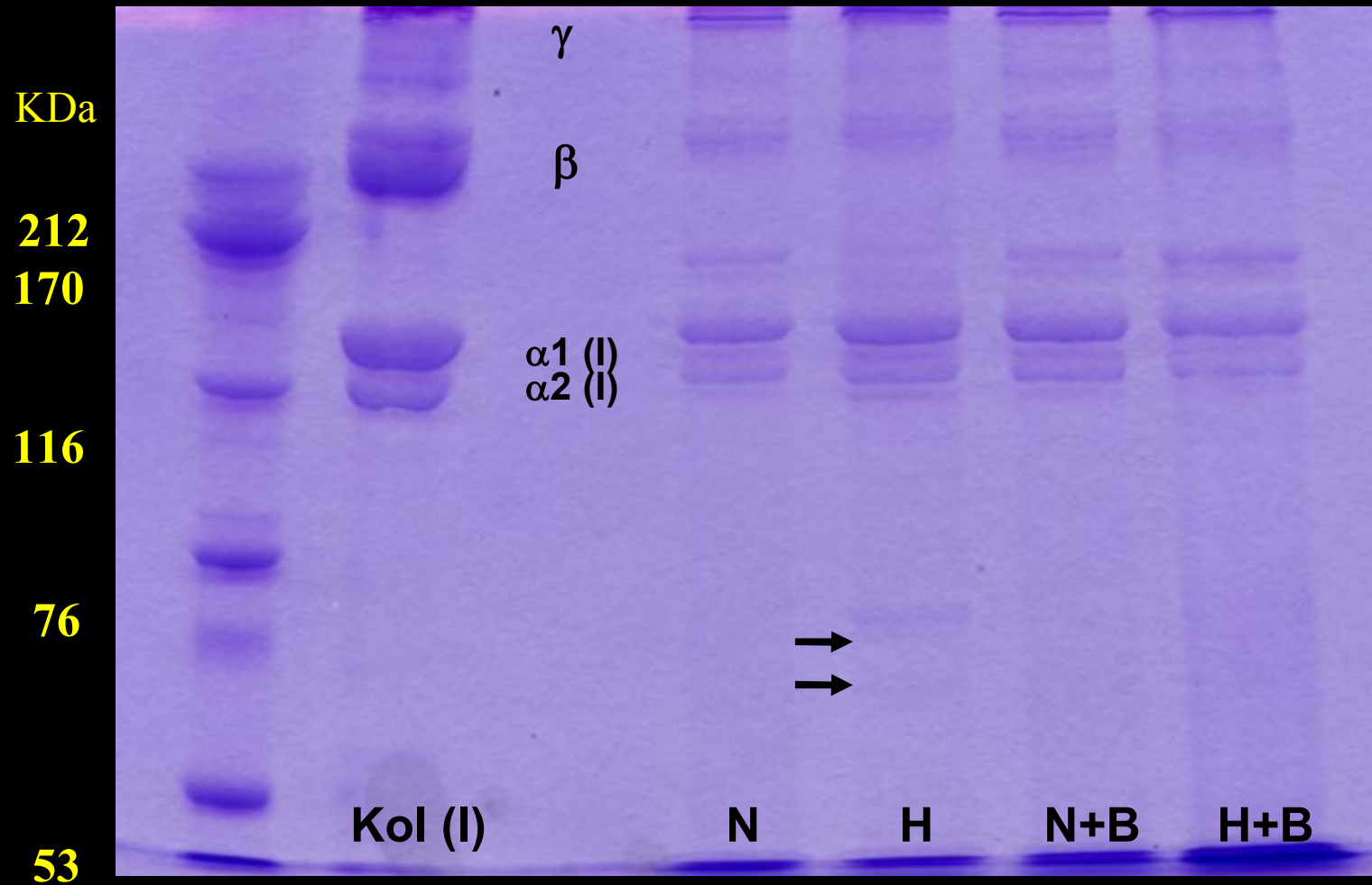
Bačáková a spol., EMP 2001

Inhibice aktivity matrixových
metaloproteinás specifickým
inhibitorem

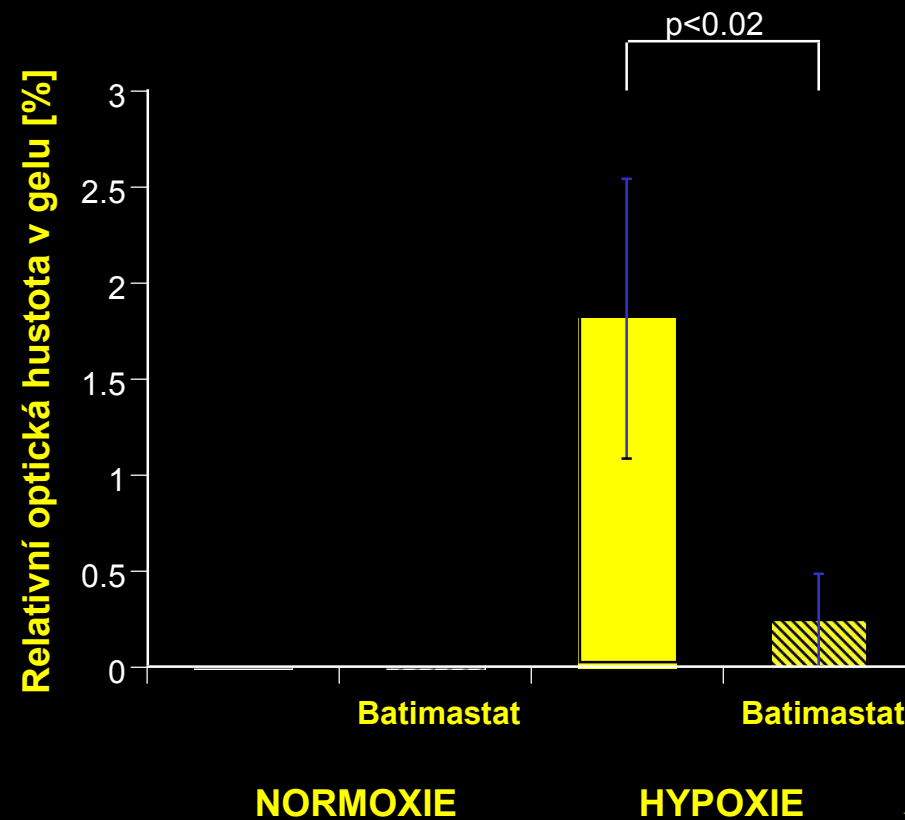
Použití syntetického inhibitoru matrixových metaloproteinás



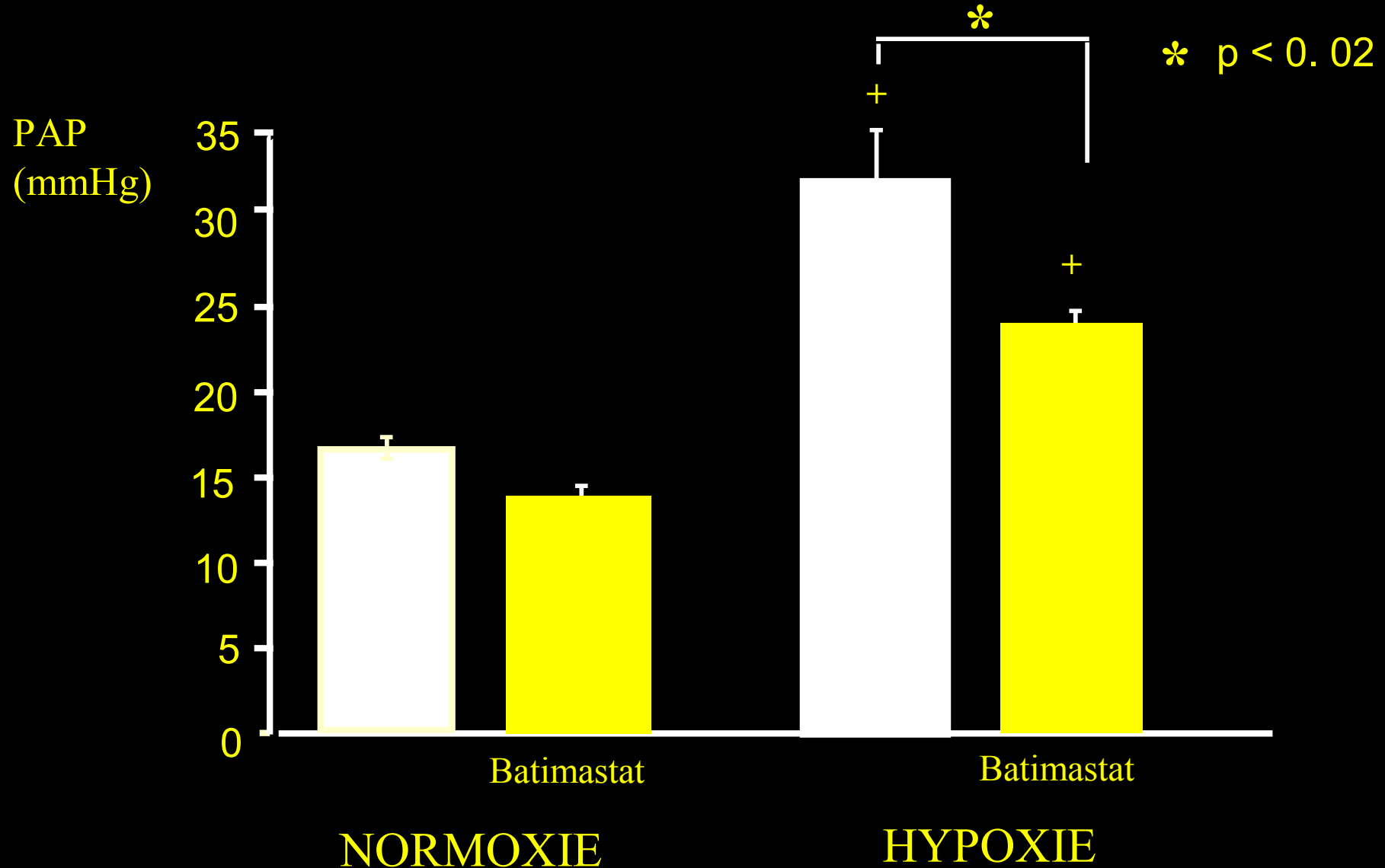
Nízkomolekulární štěpy kolagenu typické pro periferní plicní cévy zvířat vystavených hypoxii nebyly po podání batimastatu přítomny



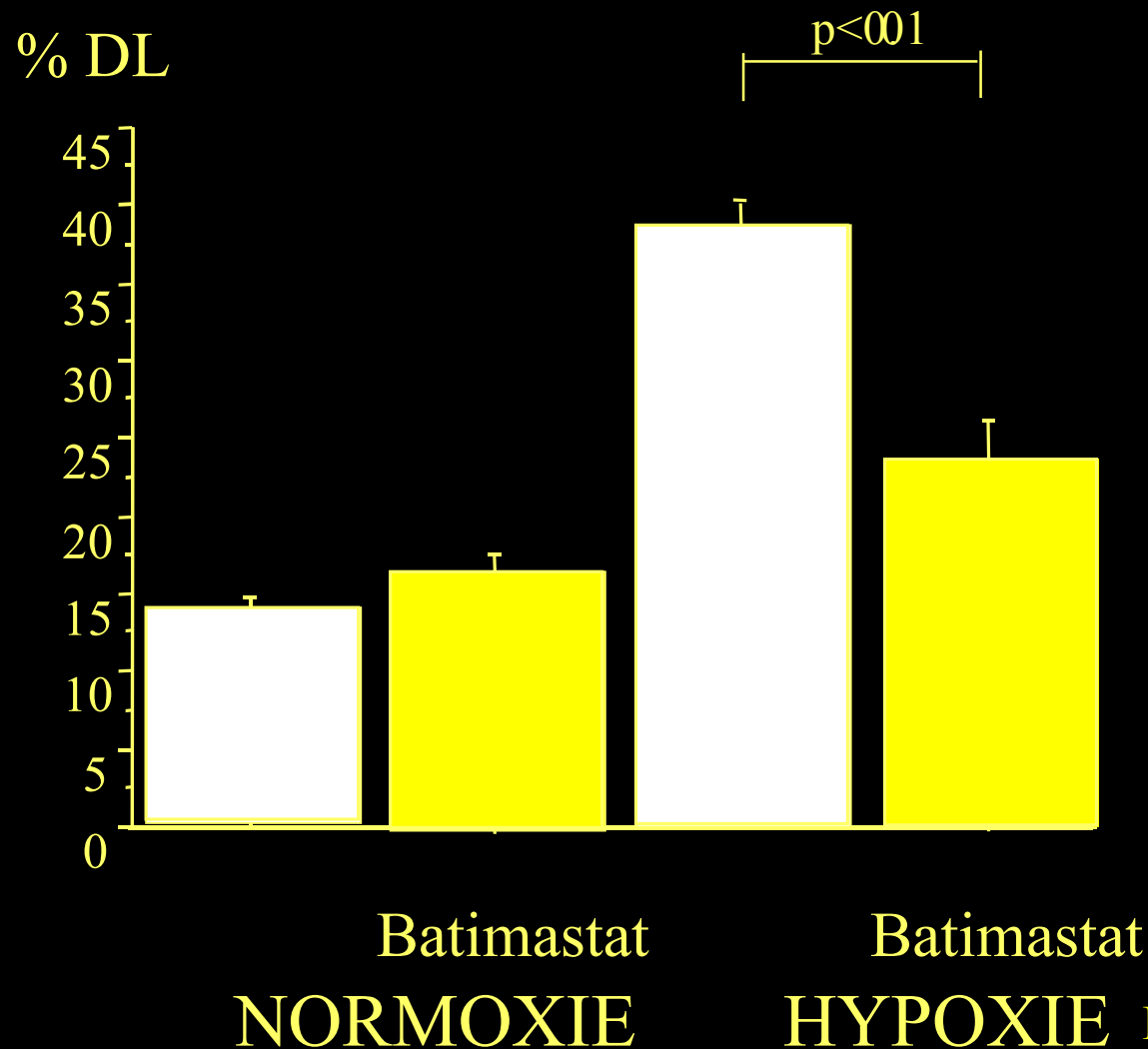
Nízkomolekulární štěpy kolagenu (m.h. 76 kD),
typické pro periferní plicní cévy zvířat vystavených
hypoxii, po podání batimastatu téměř vymizely



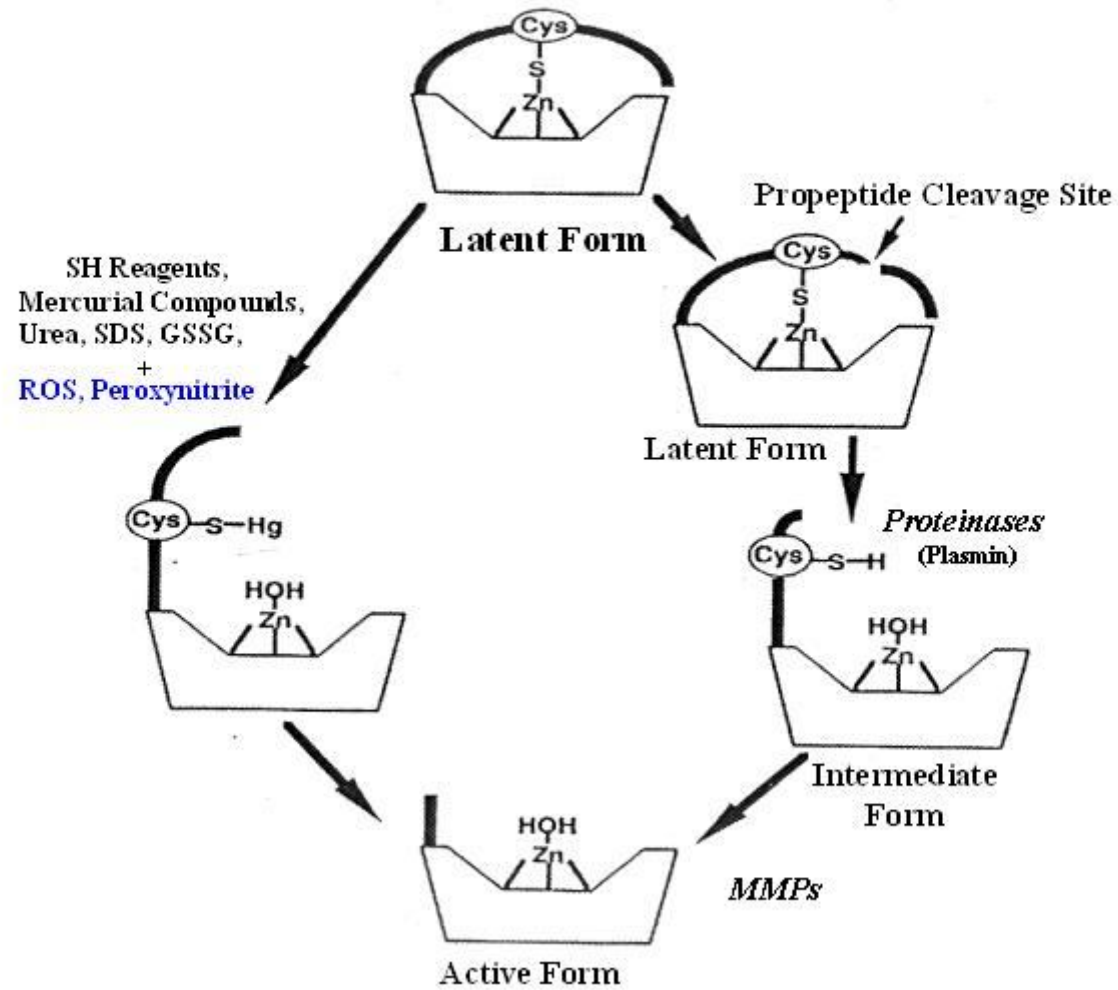
Batimastat inhibuje zvýšení tlaku v plicnici (PAP) při chronické hypoxii



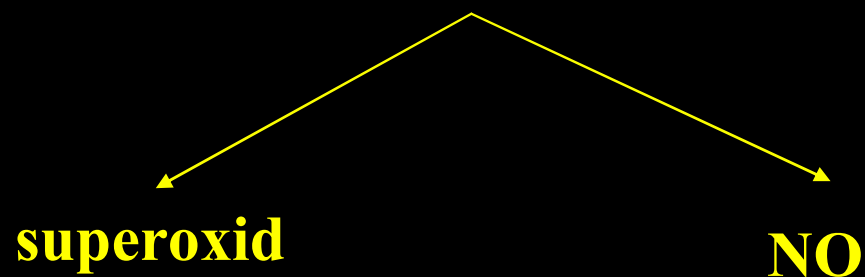
Počet muskularizovaných distálních plicních cév u potkanů vystavených hypoxii byl po podání batimastatu snížen



MECHANISM AKTIVACE MATRIXOVÝCH METALOPROTEINÁZ



Hypoxické poškození

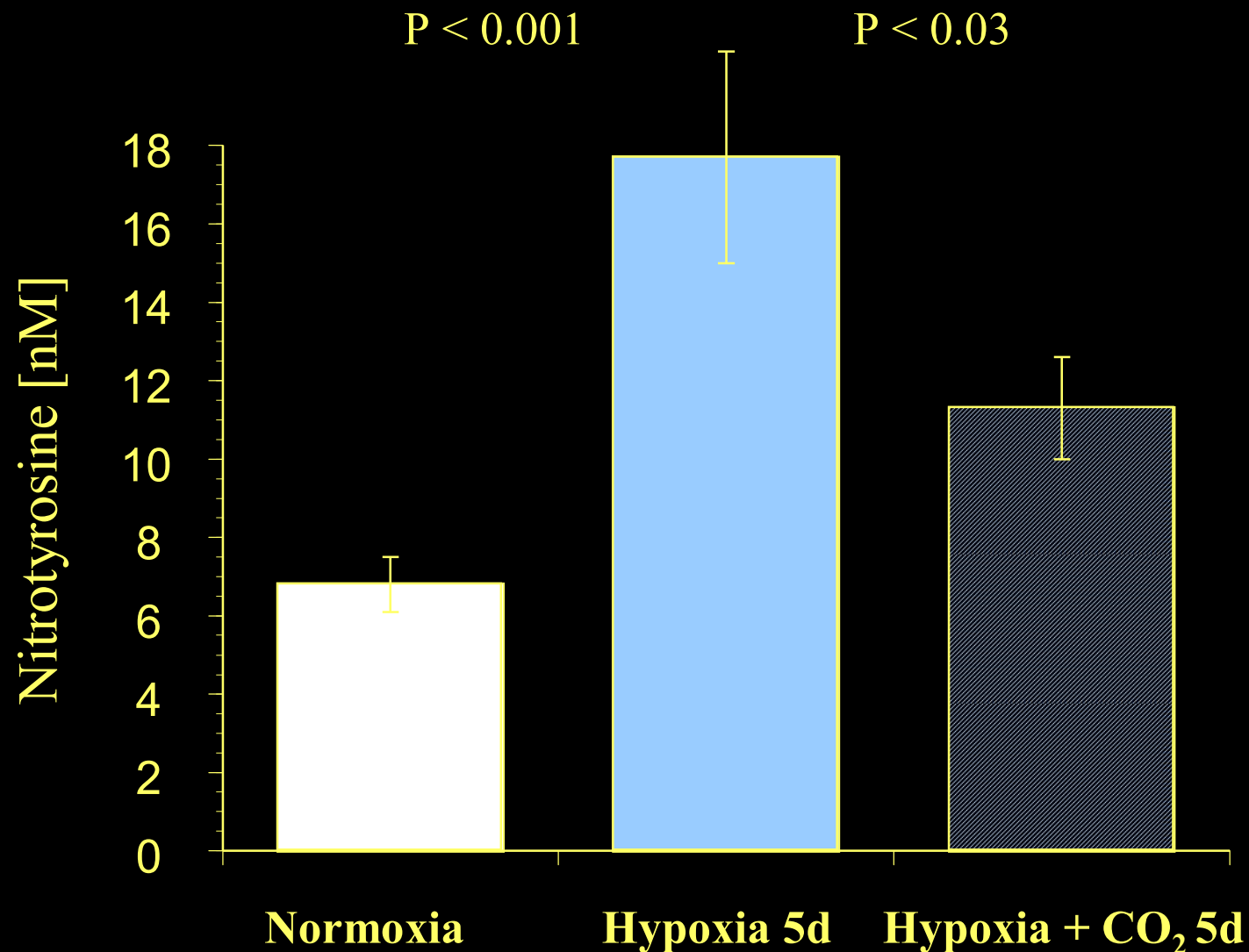


**Peroxynitrit
(nitrotyrosin)**

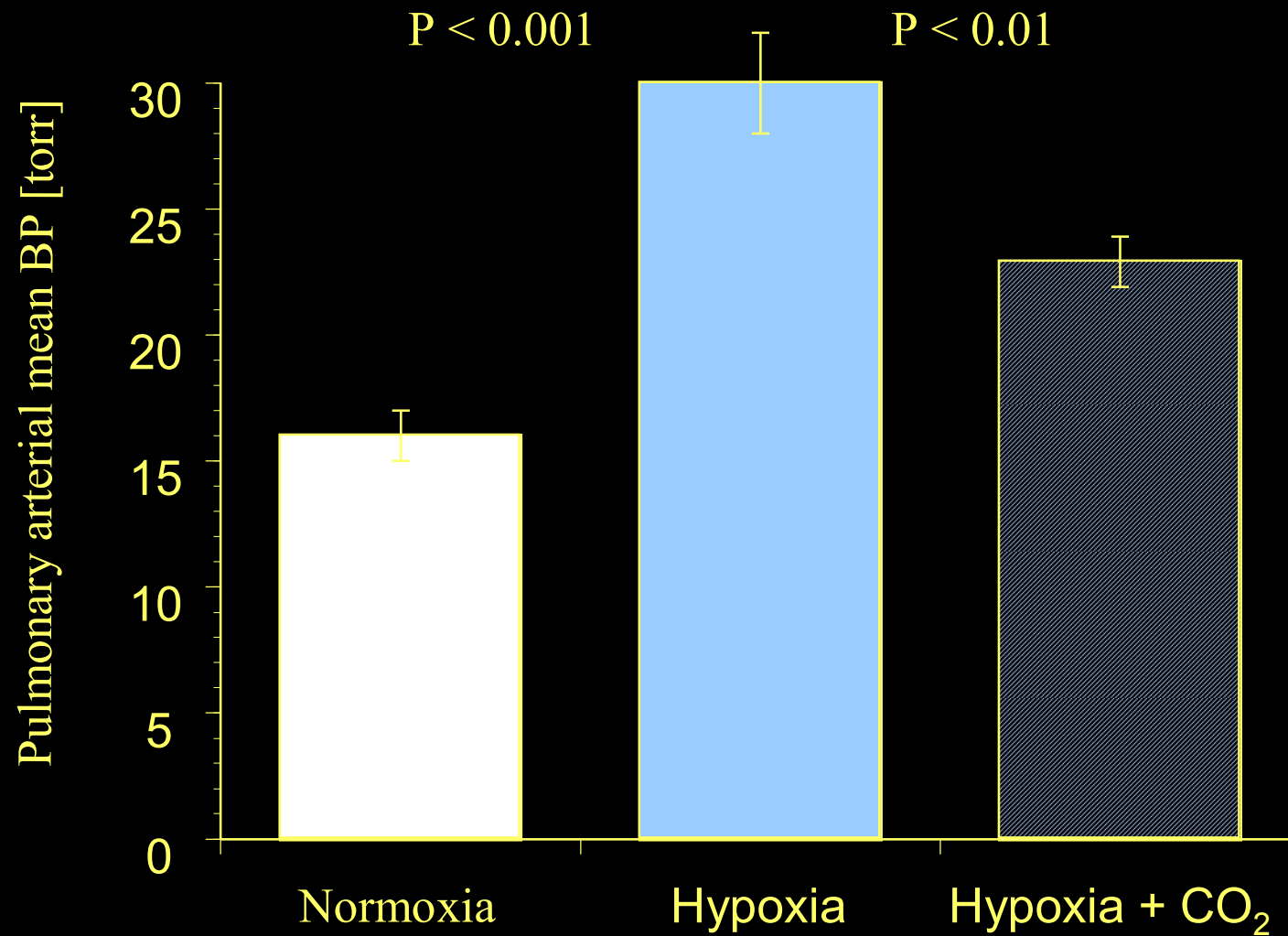


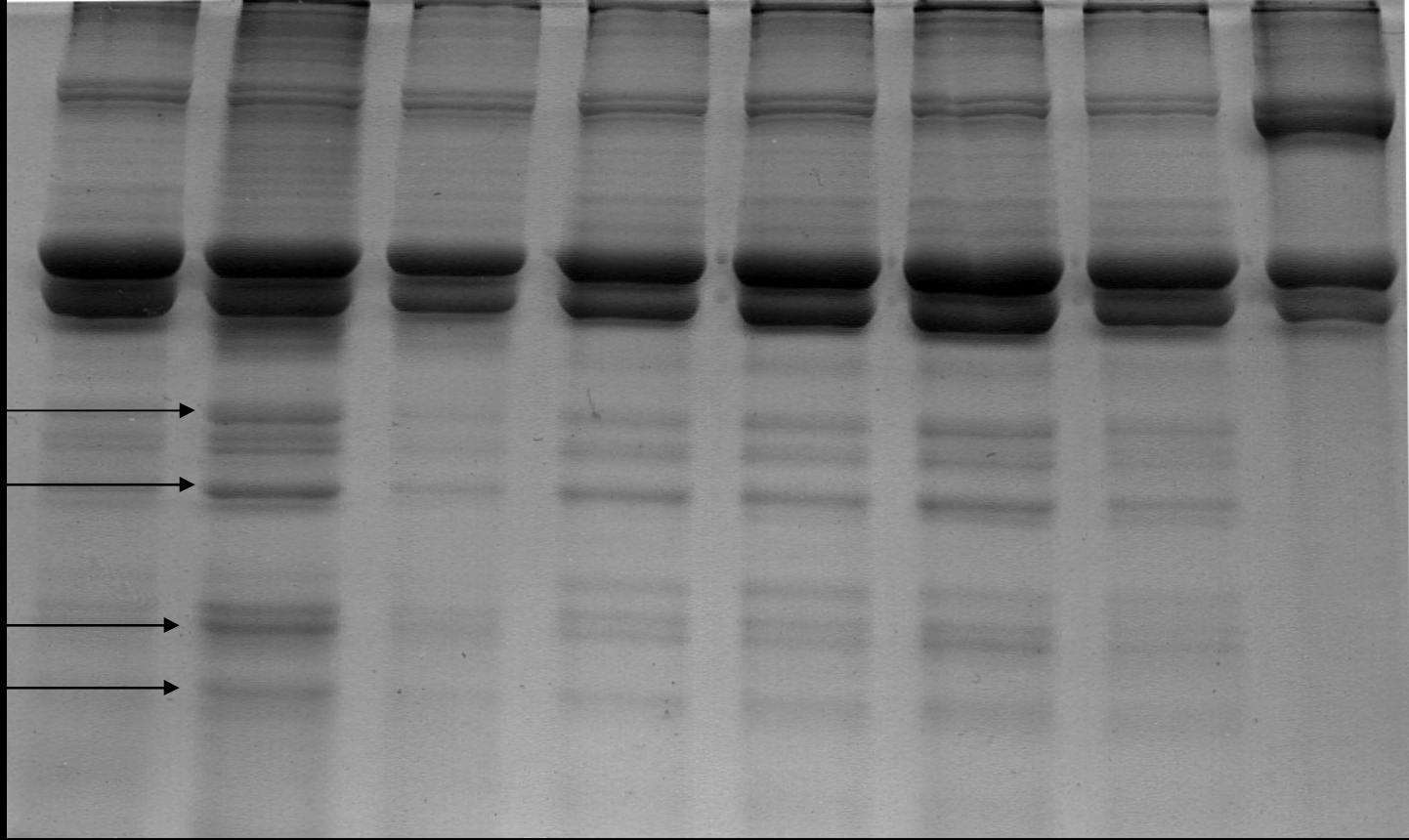
Hyperkapnie

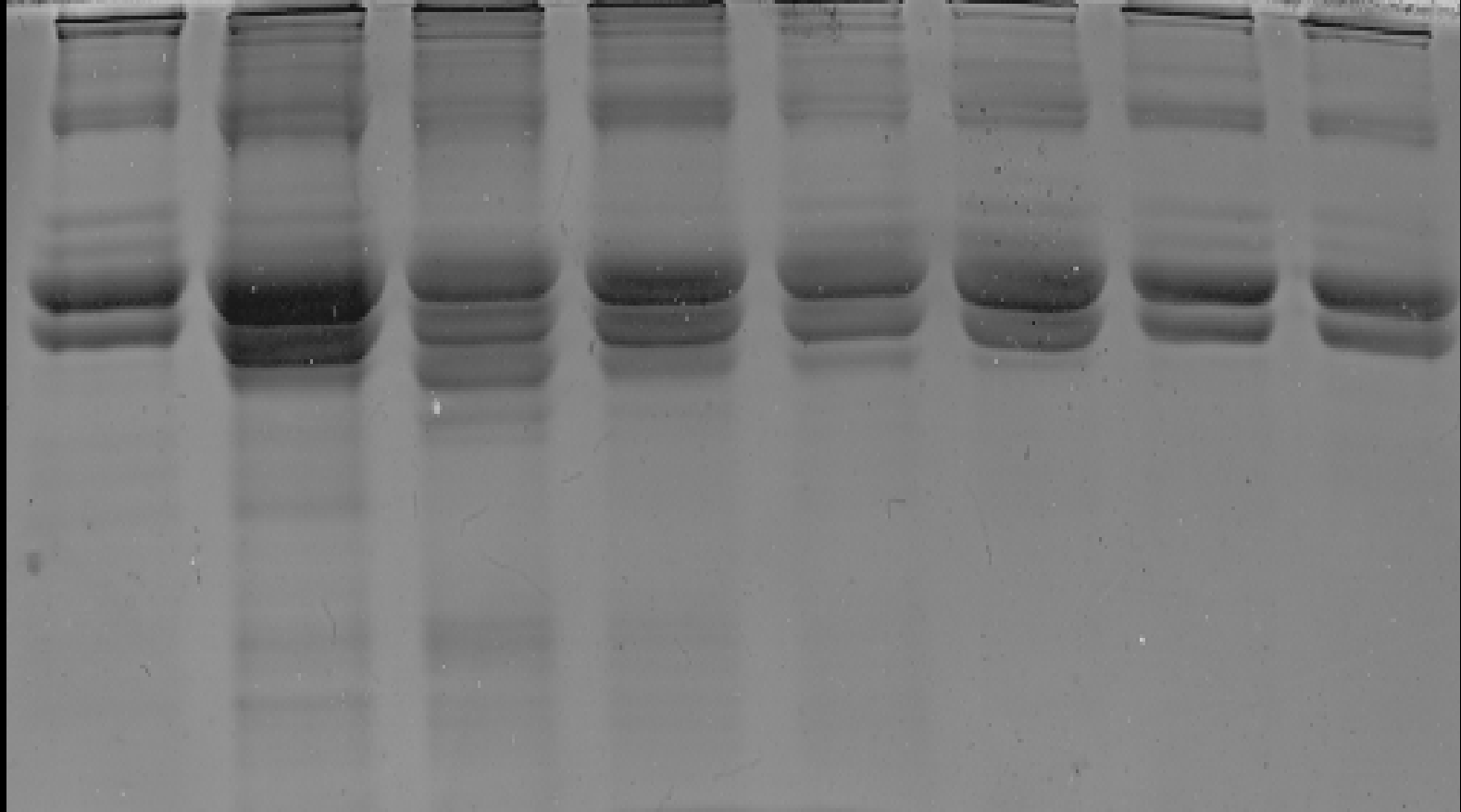
Hyperkapnie brání plasmatickému zvýšení nitrotyrosinu při chronické hypoxii



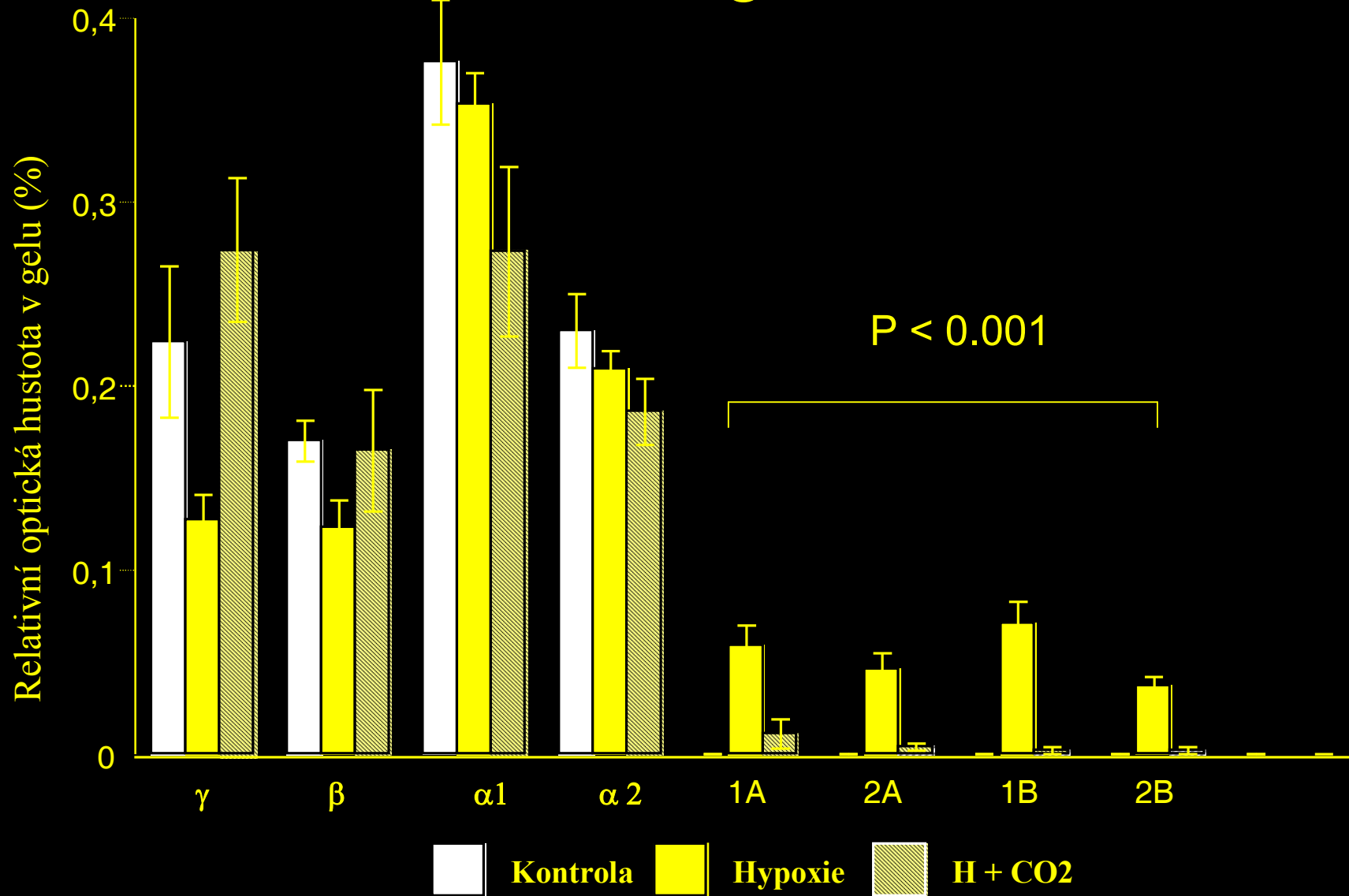
Hyperkapnie brání rozvoji hypoxické plicní hypertenze







Hyperkapnie brání vzniku nízkomolekulárních štěpů kolagenu



Závěr

Rekonstrukce periferních plicních cév při hypoxické plicní hypertenzi souvisí se zvýšenou kolagenolytickou aktivitou v jejich stěně.

Omezení kolagenolytické aktivity brání rozvoji hypoxické plicní hypertenze.

Naše výsledky nás vedou k závěru, že mechanismem vedoucím ke zvýšení aktivity matrixových metaloproteinas je radikálové tkáňové poškození. (Herget a spol., Phys. Res. 2000)