

STŘEDOŠKOLSKÁ ODBORNÁ ČINNOST

Obor 6 - zdravotnictví

**Vliv různých forem chronické hypoxie na
tělesný růst, hematokrit a myokard
laboratorního potkana**

Vypracovala: **Lucie Zemanová**

3.ročník

Gymnázium Arabská 14/682

Praha 6

Školitel: **RNDr. Jan Neckář, Ph.D.**

Fyziologický ústav Akademie věd ČR

Centrum výzkumu chorob srdce a cév

Vídeňská 1083

Praha 4

Praha, 2007

Středočeský kraj

Tímto prohlašuji, že jsem tuto práci vypracovala sama pod vedením **RNDr. Jana Neckáře Ph.D.**, kterému bych touto cestou ráda poděkovala, a uvedla veškeré použité zdroje včetně internetu.

V Praze dne 8.3.2007

POUŽITÉ ZKRATKY

DNA: Deoxyribonukleová kyselina

EPO: Eryropoetin

Hb: Hemoglobin

HIF-1 α : hypoxií indukovaný faktor 1 α

IHH: Intermitentní hypobarická hypoxie - potkani adaptovaní intermitentně v hypobarické hypoxické komoře

INH: Intermitentní normobarická hypoxie - potkani adaptovaní intermitentně v normobarické hypoxické komoře

INH+J: Intermitentní normobarická hypoxie + jídlo - potkani adaptovaní intermitentně v normobarické hypoxické komoře s dostupnou potravou a pitím při 8 h hypoxii

mRNA: Mediátorová ribonukleová kyselina

Norm I,II: Normoxie I a II - potkani chovaní v normoxii

PNH: Permanentní normobarická hypoxie - potkani adaptovaní na permanentní hypoxii v normobarické komoře

rhEPO: Rekombinantní humánní(lidský) erytropoetin

OBSAH

Použité zkratky	3
1. Úvod	5
2. Literární přehled	6
2.1. Chronická hypoxie	6
2.1.1. Kardioprotektivní účinky chronické hypoxie	7
2.1.2. Škodlivé působení chronické hypoxie	8
2.2. Krev	9
2.2.1. Funkce a složení krve	9
2.2.2. Hematopoéza	9
2.2.3. Erytrocyty	11
2.2.3.1. Vlastnosti	11
2.2.3.2. Hemoglobin	12
2.2.3.3. Tvorba a zánik erytrocytů	13
2.2.3.4. Erytropoetin	14
2.2.3.5. Krevní doping	15
2.3. Cíle práce	16
3. Metody	17
3.1. Modely adaptace na chronickou hypoxii	17
3.2. Experimentální skupin	19
3.3. Prováděná měření	19
4. Výsledky	21
4.1. Permanentní normobarická hypoxie	21
4.2. Intermitentní normobarická a hypobarická hypoxie	21
4.3. Vliv různých forem chronické hypoxie na velikost srdce	22
5. Shrnutí	29
6. Závěr	32
Použitá literatura	33

1. ÚVOD

Ischemická choroba srdeční je civilizačním onemocněním, které začalo výrazně postihovat populaci v 2. polovině 20. století. Dnes je prvořadým zdravotním problémem nejen obyvatelstva České Republiky. V našem státě je příčinou téměř jedné čtvrtiny úmrtí a další čtvrtině obyvatel život ztěžuje. Proto si myslím, že ač výzkum v této oblasti v poslední době velmi postoupil, je třeba se touto chorobou dále zabývat, nacházet možnosti její léčby a prevence a zkoumat vlivy, které na myokard působí jak škodlivě, tak protektivně.

Jednou z možností jak chránit myokard před ischemií je adaptace na výškovou hypoxii. Přibližně půl století je známo, že pobyt ve vysokých nadmořských výškách působí pozitivně na srdce, zvyšuje jeho ischemickou toleranci, ovšem příčina zůstává neznámá. Můj zájem o tuto problematiku mě přivedl na Oddělení vývojové kardiologie Fyziologického ústavu Akademie věd České Republiky (AV ČR), kde probíhá rozsáhlý výzkum zaměřený na studium kardioprotektivního působení chronické hypoxie.

Tato práce se zabývá působením několika forem chronické hypoxie na laboratorního potkana, konkrétně na jeho myokard (velikost levé a pravé komory), a vlivem na hematokrit a tělesný růst. Můj projekt byl realizován na výše zmíněném pracovišti a stal se součástí jiných pokusů, které zde dlouhodobě probíhají v rámci řešení grantových aplikací (GAČR 305/06/P372 a 305/07/0857). Projekt se uskutečnil v rámci programu „Otevřená věda“ AV ČR pro středoškolské studenty.

2. LITERÁRNÍ PŘEHLED

2.1. Chronická hypoxie

Hypoxií rozumíme nerovnováhu mezi dodávkou kyslíku a požadavky tkáně. Jinými slovy to znamená, že organismus má nižším přísun kyslíku (dochází ke snížení parciálního tlaku kyslíku v arteriální krvi), než na jaký je zvyklý. **Chronickou hypoxií** je pak myšlena situace, kdy je tomuto stavu organismus vystaven dlouhodobě a je nucen se na něj **adaptovat**. Nejvýrazněji chronická hypoxie ovlivňuje kardiopulmonární systém. Při adaptaci na chronickou hypoxii proběhne řada fyziologických a metabolických změn, které vedou k co nejmenší spotřebě energie za co nejvyššího výkonu. Je to děj, který vyvolá řadu změn pozitivních (zvýšená ischemická tolerance, viz kapitola 2.1.1.), ale i negativních pro organismus (hypoxická plicní hypertenze, hypertrofii pravé komory srdeční, viz kapitola 2.1.2.; Neckář 2005).

Chronicky hypoxických podmínek lze dosáhnout několika způsoby, nejrozšířenějším je tzv. **systémová hypoxie**. Její přirozenou formou je buď adaptace na vysokohorské prostředí (**výšková hypoxie**) nebo fetální oběh, u kterého zásobení kyslíkem odpovídá hypoxii v nadmořské výšce cca 8000 m. **Vysoká nadmořská výška** není přesně definovaným pojmem a názory, kdy již lze určitou nadmořskou výšku považovat za „vysokou“, jsou značně rozdílné. Část vědců, zabývajících se touto problematikou, stanovuje hranici vysoké nadmořské výšky na 3000 m, ovšem řada zásadních fyziologických změn byla popsána i u mnohem nižších nadmořských výšek. Například vyšší hmotnost pravé komory (její hypertrofie) a vznik mírné plicní hypertenze byl prokázán u potkanů, kteří byli 60 dní v nadmořské výšce 1350 m na Štrbském plese (Slovensko) (Kolář a kol. 1988). Případem dokonalé adaptace na výškovou hypoxii jsou vysokohorské národy a živočichové (např. lama). U Indiánů žijících v jihoamerických Andách se prokázala přítomnost zvláštního druhu hemoglobinu, který má více vazebných míst pro kyslík. Této adaptace dosáhli populace Indiánů během tisíciletého vývoje a jedná se geneticky fixovanou změnu. Experimentálně můžeme systémové hypoxie dosáhnout umístěním laboratorních zvířat do **hypoxické komory**, kde se sníží parciální tlak kyslíku buď odčerpáním části vzduchu (**hypobarická hypoxie**), nebo změnou složení plynů (**normobarická hypoxie**). Adaptace v hypobarické hypoxické komoře svým nízkým atmosférickým tlakem simuluje pobyt ve vysoké nadmořské výšce, takže ji lze považovat za experimentální model výškové hypoxie. Ukázalo se, že k rozvoji změn stačí i každodenní několikahodinové expozice (**intermitentní chronická hypoxie**; Ošťádal a Kolář 1988).

Vedle systémové hypoxie existuje také **histotoxická hypoxie**, vznikající např. dlouhodobým podáváním nízkých dávek CoCl_2 . Záměna železa za kobalt v molekule hemoglobinu vyvolává tkáňovou hypoxii. Dalšími formami jsou **anemická** a **ischemická** hypoxie. Při anemické hypoxii je parciální tlak kyslíku v normě, ale je snížena jeho transportní kapacita (nedostatek erytrocytů schopných přenášet kyslík). Při ischemické hypoxii dochází k omezení průtoku krve částí krevního řečiště. V případě úplné zástavy krevního zásobení pak mluvíme o vzniku **infarktu**. Všechny typy chronické hypoxie mají typické patofyziologické projevy jakými jsou plicní hypertenze, hypertrofie pravé komory, cyanóza, a další (Ošťádal a Kolář 1988).

2.1.1. Kardioprotektivní účinky chronické hypoxie

Adaptace organismu na podmínky chronické hypoxie vede ke zvýšené odolnosti myokardu k akutní ischemii na různých úrovních poškození. Výzkumy z 50. a 60. let minulého století prokázaly, že lidé žijící ve vysokých nadmořských výškách Jižní Ameriky mají snížený výskyt akutních ischemických srdečních příhod, **infarktu myokardu**. Toto zjištění vedlo k řadě studií, které prokázaly ochranný účinek chronické hypoxie na myokard experimentálně. V počátku 70. let pak byl zjištěno, že nejen permanentní chronická hypoxie, ale i její intermitentní podoba vede k navození **kardioprotekce** (Widimský a kol. 1973).

V dnešní době se dosáhlo velikého posunu v oblasti zkoumání kardioprotektivního působení chronické hypoxie na myokard. Bylo prokázáno, že tato adaptace snižuje velikost **infarktu myokardu**, zlepšuje **obnovu postischemických kontraktálních funkcí** srdce a snižuje výskyt a závažnost **komorových ischemických a reperfučních arytmií** u řady experimentálních zvířat (myš, potkan, králik, pes) v závislosti na intenzitě hypoxického stimulu (Asemu a kol. 2000). Kardioprotektivní účinek chronické hypoxie byl zjištěn jak u samců, tak u samic, které jsou obecně rezistentnější ke vzniku a následkům infarktu myokardu. Nepřímým důkazem ochranného působení chronické hypoxie je myokard novorozenců, který je velmi odolný k ischemii a infarkt myokardu se u nich prakticky nevyskytuje. Velmi zajímavým zjištěním, především pro klinické kardiology, je skutečnost, že kardioprotektivní účinek přetrvává řadu týdnů po ukončení adaptace a návratu do normoxických podmínek (Neckář a kol. 2004). Dosud publikovaná klinická data také naznačují, že u pacientů s dlouhotrvajícími příznaky **anginy pectoris** (zhoršení krevního zásobení a tedy i okysličení myokardu v důsledku zmenšeného průtoku krve zúženými

koronárními artériemi) má akutní infarkt myokardu méně závažné důsledky pro jejich srdce v porovnání s pacienty bez příznaků tohoto onemocnění (Kolář a Ošťádal 2004).

V průběhu posledních několika let byla získána řada zásadních poznatků o mechanismu protekce vyvolaného chronickou hypoxií. Zdá se, že chronická hypoxie využívá **protektivní buněčné signální dráhy**, detailní analýza intracelulárních mechanismů v chronicky hypoxickém myokardu však chybí. Z dosud známých poznatků lze usuzovat, že klíčové postavení mají **mitochondrie**. Tyto „továrny buněčné energie“ jsou díky chronické hypoxii lépe chráněny k akutnímu nedostatku kyslíku v důsledku ischemie (Kolář a Ošťádal 2004).

2.1.2. Škodlivé působení chronické hypoxie

Hypoxické podmínky působí opačně na hladkou svalovinu systémového a plicního oběhu. Zatímco u systémovém oběhu dochází k vasodilataci, na plicní oběh působí chronická hypoxie vasokonstrikčně. Důsledkem je rozvoj **plicní hypertenze** (zvýšený krevní tlak v plicním oběhu), která následně ovlivňuje pravou komoru, dochází k jejímu přetížení a vzniku **hypertrofie** (zbytnění; Neckář 1998).

Plicní hypertenze a hypertrofie pravé komory byla zjištěna u lidí žijících ve vysokých horách již v prvních epidemiologických studiích z 50. let minulého století. Pro vznik obou negativních projevů výškové adaptace existuje u živočichů druhová závislost. Nejcitlivěji reagují na změny vyvolané vysokou nadmořskou výškou vepři a hovězí dobytek, naopak vysoká rezistence byla zjištěna u psů a ovcí. K nejodolnějším savcům patří lamy, u kterých vysoká nadmořská výška vyvolává jen minimální vasokonstrikční odpověď plicního oběhu. Rozvoj plicní hypertenze a hypertrofie pravé komory byli prokázány také v laboratorních podmínkách intermitentní výškové hypoxie.

Experimenty s potkany adaptovanými na intermitentní výškovou hypoxii ukázaly morfologické změny myokardu a vznik mikroskopických nekrotických ložisek. Významně větší podíl nekrotických míst byl zjištěn v pravé komoře. Už adaptace na výšku 3000 m nad mořem vedla ke strukturálním změnám pravé komory, histologicky prokázána ložiska nekrotické tkáně byla zjištěna u potkanů adaptovaných na nadmořskou výšku 6000 m. Tyto morfologické změny myokardu vyvolané výškovou hypoxií jsou nezvratné a po návratu k trvalé normoxii se nevrací do původního stavu (Ošťádal a kol. 1985).

Chronická hypoxie (permanentní i intermitentní) stimuluje tvorbu červených krvinek (viz kapitola 2.2.3.3.), což vede k významnému vzestupu hodnot hematokritu a viskozity krve, které mají negativní vliv na kardiovaskulární systém (viz kapitola 2.2.3.5.).

2.2. Krev

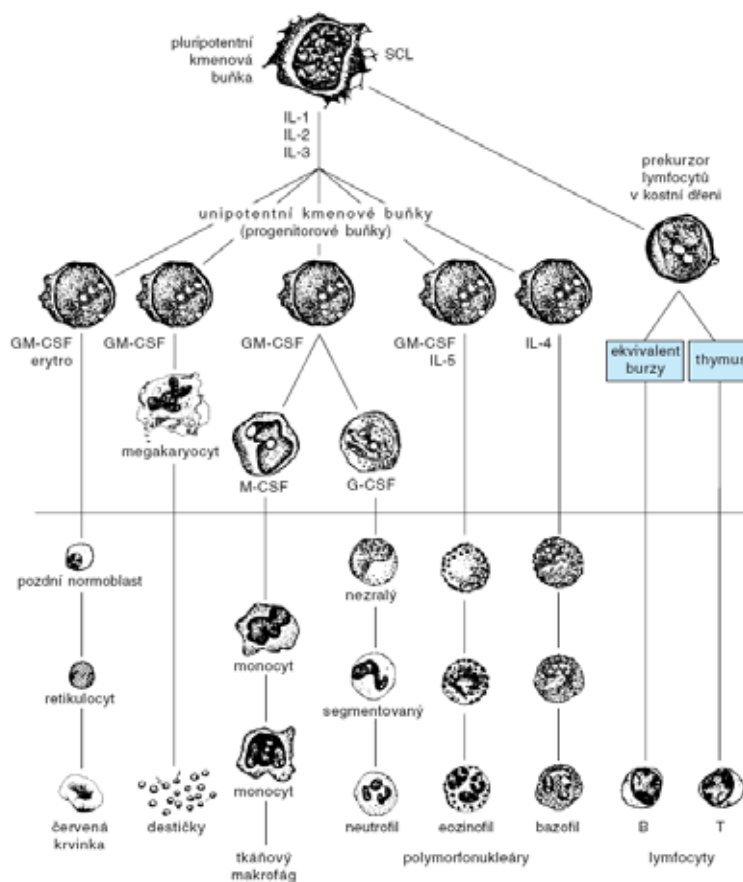
2.2.1. Funkce a složení krve

Krev je červená, neprůhledná vazká tekutina. Je to suspenze buněčných elementů – červených a bílých krvinek a krevních destiček v plazmě. Objem krve činí 7-10% celkové tělesné hmotnosti. To odpovídá celkovému objemu 4,5 až 6 litrů krve na dospělého člověka. Červené krvinky neboli **erythrocyty** tvoří 96% všech krevních buněk. Tyto krvinky nemají buněčné jádro ani organely, jsou to neplnohodnotné buňky. Obsahují krevní barvivo hemoglobin (viz kapitola 2.2.3.2.), který je schopný vázat kyslík. Prouděním krve v organismu dochází k distribuci tohoto životně důležitého prvku v těle. Bílé krvinky neboli **leukocyty** jsou mezi krevními buňkami zastoupeny cca 3% a jsou součástí imunitního systému. Dokáží eliminovat původce infekcí a účastní se imunitních odpovědí organismu (alergie, zánět apod.). Krevní destičky neboli **trombocyty** jsou zastoupeny 1% a mají na starosti srážlivost krve. Jejich funkce je zásadní pro udržení zásobení organismu kyslíkem a živinami v případě porušení krevního řečiště. Krevní **plazma** je nažloutlý, slabě zásaditý roztok. Obsahuje velké množství iontů a anorganických i organických molekul, které transportuje do různých částí těla nebo jejich pomocí dopravuje jiné látky.

2.2.2. Hematopoéza

Proces vzniku krve se nazývá **hematopoéza**, neboli krvetvorba. Všechny krevní elementy vznikají u dospělého člověka z **pluripotentních hematopoetických kmenových buněk** červené kostní dřeni, která je aktivní v krvetvorbě. Neaktivní dřeň, která obsahuje tukové buňky pak říkáme žlutá dřeň. U plodu se červené krvinky tvoří také v játrech a slezině. Mimodřeňová krvetvorba se může projevit u některých nemocí. Vývoj krevních buněk je podmíněn krvetvorným „mikroprostředím“, podpůrnou tkání. Ke krvetvorbě dochází u dítěte v kostní dřeni všech kostí, u dospělých zůstává pouze v plochých kostech, epifýzách dlouhých kostí, žebrech a osově části kostry (Pokorný a kol. 1995). Pluripotentní kmenové buňky mají dvě základní vlastnosti. Za prvé jsou schopné sami se dělit, obnovovat se. To znamená, že dělením vzniká nová kmenová buňka a jejich počet se v závislosti na věku nemění. Za druhé je schopná se diferencovat. Ohledně této schopnosti existuje několik teorií. **Monofyletická**

teorie říká, že jedna kmenová buňka je společná pro všechny krevní elementy. **Difyletická teorie** zastává názor, že existuje zvláštní kmenová buňka pro granulocyty (podtyp leukocytů) a další pro ostatní krevní elementy. **Polyfyletická teorie** říká, že každý krevní element vychází ze své kmenové buňky (Wikipedie). Jako nejpravděpodobnější se jeví kompromisní teorie, podle které existuje jedna pluripotentní hematopoetická kmenová buňka, ze které se diferencují dvě buněčné linie, jedna výchozí pro lymfocyty a druhá pro ostatní krevní elementy (obr. 1).



Obr. 1. Vývoj různých formovaných elementů krve z buněk kostní dřeně.

Buňky pod vodorovnou čarou se nacházejí v normální periferní krvi. Obrázek ukazuje i hlavní místa účinku erythropoetinu (erytro) a různých faktorů stimulujících kolonie. G - granulocyt, M - makrofág, IL - interleukin, SCL - protein regulující proliferaci kmenových buněk. (Převzato z Ganong a kol. 2005).

Z pluripotentní hematopoetické kmenové buňky vznikají diferenciací **multipotentní buňky**. Ty jsou dvojího druhu, **lymfoidní** a **myeloidní**. Část populace lymfoidních multipotentních buněk opouští kostní dřen a migruje do brzlíku, kde se diferencuje na T-lymfocyty. Z buněk lymfoidní linie, které zůstaly v kostní dřeni, vzniknou B-lymfocyty. Oba

typy lymfocytů jsou pak základem imunitního systému. Multipotentní buňka se dále dělí v **progenitorové buňky**. Ty jsou stále schopné se množit a dát tak vznik dalším progenitorovým buňkám. Na povrchu jejich membrán jsou receptory pro **hematopoetiny**, růstové faktory, které spouští další diferenciaci buněk. Z progenitorových buněk jejich vlivem vznikají buňky **prekursorové**. Prekursorové buňky svým dělením vytvářejí linii vedoucí ke zralým krevním elementům (Wikipedie). Pro každý typ krvinky existuje jedna prekursorová buňka (obr. 1).

2.2.3. Erytrocyty

2.2.3.1. Vlastnosti

Červené krvinky jsou velmi specializované a zároveň jednoduché buňky (obr. 2). Muži mají $4,3-5,3 \times 10^{12}$ erytrocytů na litr krve a ženy $3,8-4,8 \times 10^{12}$, je jich tedy více u mužů (Pokorný a kol. 1995). Jejich úkolem je transport dýchacích plynů mezi plícemi a tkáněmi. Erytrocyty jsou přizpůsobeny své funkci, jejich tvar je diskovitý se ztenčením uprostřed (bikonkávní disky), průměr se pohybuje okolo 6-8 μm , tloušťka je přibližně 2,6 μm uprostřed 0,8 μm . To umožňuje mít asi o 30% větší povrch oproti kouli stejného objemu. Mohou se značně deformovat, čímž je usnadněn průnik do vlásečnic (kapilár) a tím i výměna plynů kdekoliv v tkáni.

V červených krvinkách je okolo 60% vody a 40% sušiny. 95% sušiny tvoří hemoglobin (viz kapitola 2.2.3.2.). Zbytek připadá na ostatní bílkoviny, tuky, malé množství sacharidů a elektrolyty. Membrána červených krvinek je vystavována dvěma typům zátěžových situací. Za první, při průchodu tenkou vlásečnicí, která má průměr 2-3 μm , musí extrémně deformovat svůj tvar. Za druhé, při průchodu srdcem a velkými cévami jsou erytrocyty vystaveny značné dynamické zátěži v důsledku maximální rychlosti proudění krve v těchto částech kardio-vaskulárního systému. V obou případech si musí udržet svou stabilitu, proto jsou opatřeny speciální kostrou, skeletem z vláknitých bílkovin, díky němuž mohou měnit tvar.

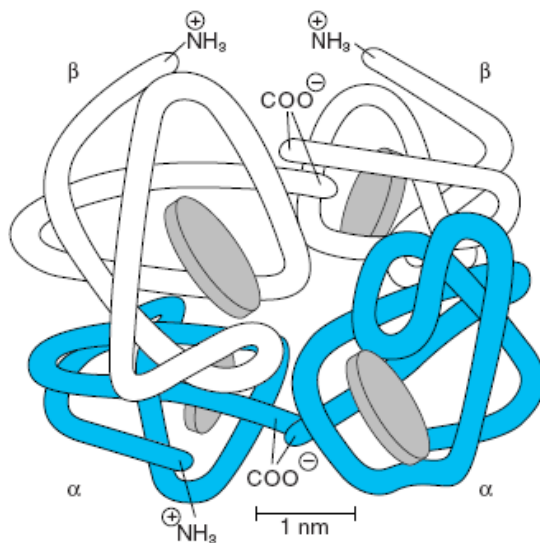


Obr. 2. Erytrocyty.

2.2.3.2. Hemoglobin

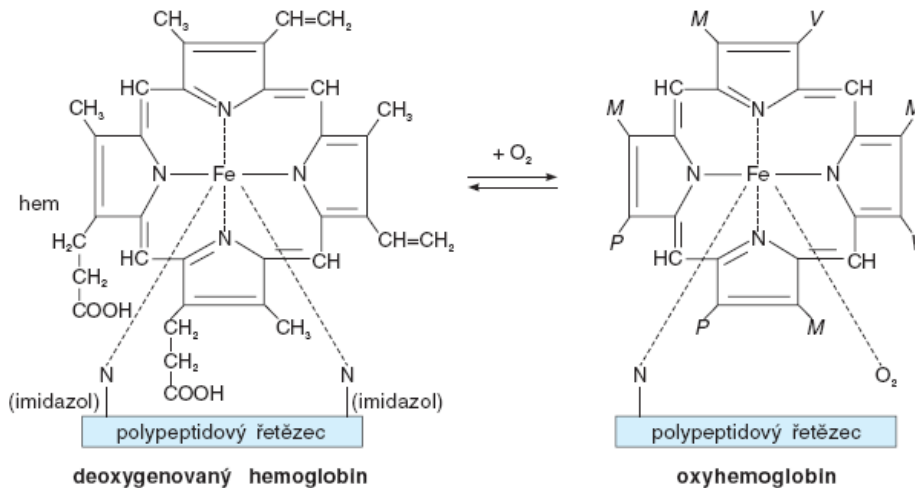
Hemoglobin (Hb) je červený pigment (složená bílkovina), který obsahují krvinky obratlovců. Skládá se ze čtyř podjednotek (obr. 3). Každou podjednotku tvoří řetěz aminokyselin (polypeptid), k němuž se váže barevná skupina **hem**. Hem je komplexní sloučenina s centrálním atomem železa. Čtyři řetězce aminokyselin tvoří bílkovinu **globin**. Polypeptidové podjednotky jsou tvořeny odlišnými řetězci (α , β , γ , δ a ζ), jejichž složení se zásadně mění časně po narození.

Vazbou Hb a kyslíkem vzniká **oxyhemoglobin** (obr. 4). Jedna molekula Hb může vázat až čtyři molekuly kyslíku. Hb však váže nejen kyslík, navázáním oxidu uhličitého vzniká **karboxyhemoglobin**. Tímto způsobem je tento produkt metabolismu odváděn do plic, kde je vydechován. Vysokou afinitu má Hb k oxidu uhelnatému (výrazně vyšší v porovnání s kyslíkem), což způsobí, že i malá příměs CO ve vzduchu stačí k nasycení vazebných míst pro kyslík a dochází ke smrtelné otravě (Pokorný a kol. 1995).



Obr. 3. Schématické znázornění molekuly hemoglobinu.

Dvě α a β podjednotky, polypeptidové řetězce a nichž každý obsahuje složku hemu (znázorněno jako disk; Převzato z Ganong a kol. 2005).



Obr. 4. Reakce hemu a kyslíku.

Zkratky M, V a P označují skupiny stejné jako na molekule vlevo (Převzato z Ganong a kol. 2005).

2.2.3.3. Tvorba a zánik erytrocytů

Tvorba erytrocytů neboli **erytropoéza** trvá asi 7 dní. Je podřízena mechanismu tzv. zpětné vazby. Nárůst počtu erytrocytů nad normu je tlumen a při nedostatku erytrocytů, např. anémii, zvyšován. Aby mohla erytropoéza probíhat, musí být k dispozici řada klíčových látek, vitamín B 12, kyselina listová a především železo, neboť je nejdůležitější složkou hemu a váže se na něj kyslík. To je potřebné nejen pro funkci Hb, ale i **myoglobinu** (pigment podobný Hb nacházející se v kosterním svalu) a mnoha enzymů, které rovněž obsahují hemovou skupinu. Tyto látky ovšem neregulují vlastní erytropoézu, jsou však pro ní nezbytné. Řízení produkce erytrocytů probíhá na hormonální bázi a účastní se jí hormony **erythropoetin** (viz kapitola 2.2.3.4.), tyroxin, testosteron, estrogen a somatotropní hormon (Kittnar 2000).

Erytrocyty vznikají diferenciací prekursorové buňky v **proerytroblast**. Proerytroblast je buňka kulovitého tvaru, 15-20 μm velká. Dělením dále vznikají **erytroblasty**. U erytroblastu začíná syntéza Hb. Následuje několik dělení, při nichž se buněčné jádro postupně zmenšuje, zhušťuje a nakonec je z buňky vypuzeno. Vzniká bezjaderný **retikulocyt**, který je schopen plnit povinnosti erytrocytu a asi za 2-3 dny prostoupí stěnou dřevňového splavu do periferního řečiště. Dřevňový retikulocyt si zachovává některé cytoplazmatické organely, má mitochondrie a ribozomy a je schopen vytvářet Hb. Pak vymizí organely, zastaví se tvorba hemu a globinu a vzniká zralý erytrocyt (viz obr. 1; Wikipedie; Ganong 2005).

Červená krvinka žije asi 120 dní. Během svého života erythrocyty stárne a ztrácí na pružnosti. Zpomaluje se její průchod úzkými cévami a štěrbinami ve slezině, kde bývá nakonec zachycena. Ve tkáních sleziny a jater jsou zachycené erythrocyty pohlcovány makrofágy. Hb, jež je z krvinek při zániku uvolněn, se dále štěpí. Z globinu se stanou na aminokyseliny a hem se rozpadá na bilirubin, močové barvivo. Uvolněné železo zůstává v organismu a je použito k tvorbě nového Hb (Pokorný a kol. 1995).

2.2.3.4. Erythropoetin

Erythropoetin (EPO) je hormon, glykoprotein, složený ze 165 aminokyselin a 4 oligosacharidových řetězců, jejichž obměnou vzniká α , β , a γ EPO. EPO je syntetizován v ledvinách a v malém množství také v játrech a řídí tvorbu a dozrávání erythrocytů v kostní dřeni. Působí jako faktor stimulující mitózu kmenových buněk červené krevní řady a jako hormon působící na jejich diferenciaci (viz obr. 1). Když je hladina EPO v krvi nízká, v erytroidních kmenových buňkách se štěpí DNA a poté následuje programovaná srdeční smrt, **apoptóza**, nezralého erythrocytu. EPO štěpení DNA zabrání a tak zajišťuje přežití buněk a tedy zvýšenou produkci červených krvinek. Účinnost jednotlivých forem EPO je prakticky totožná.

Přirozeným stimulem pro tvorbu EPO je nedostatek kyslíku v krvi (hypoxie), třeba v případě masivního krvácení nebo při pobytu ve vysokých nadmořských výškách, kde je snížen parciální tlak kyslíku (viz kapitola 2.1.). Při masivním krvácení tělo sice objem krve velmi rychle doplní tím, že krevní ztrátu nahradí vodou a dojde k vazokonstrikci periferních cév, avšak počet červených krvinek se nezmění a tudíž ani nezlepší zásobení ledvin kyslíkem. V obou zmíněných případech zhoršení zásobování ledvin kyslíkem stimuluje produkci EPO. Syntéza EPO je regulována tzv. hypoxií indukovaným faktorem 1α (**HIF-1 α**). Jedná se o transkripční faktor, protein účastnící se regulace přepisu genetické informace (sekvenci nukleotidů pro EPO) z DNA do mRNA. HIF-1 α je regulován množstvím kyslíku jeho produkce exponenciálně stoupá s prohlubující se hypoxií. Naopak návrat k normoxii (reoxygenace) tento protein velmi rychle degraduje (poločas rozpadu je kratší než 1 min).

Zvýšená syntéza EPO a jeho uvolňování do krevního řečiště nastává velmi rychle od počátečního stimulu a je otázkou desítek minut. V průběhu několika hodin se pak koncentrace EPO vrací na původní úroveň, přestože stále nedošlo k významnému nárůstu počtu červených krvinek (Rodríguez a kol. 2000). Uvolněný EPO se totiž naváže na receptory v kostní dřeni a aktivuje rychlejší zrání červených krvinek a jejich následné vyplavení. Nárůst počtu

červených krvinek se neprojeví okamžitě, lze jej zaregistrovat vyšším hematokritem nejdříve až za 4-5 dní od hypoxického stimulu.

V souvislosti s chronickou hypoxií je třeba zmínit aktuální poznatky o protektivním působení EPO. Bylo prokázáno, že akutní podání EPO vede k aktivaci podobných protektivních signálních drah chránících různé orgány včetně srdce před důsledky ischemie. Jednorázové podání EPO přitom nevedlo k významné stimulaci erythropoézy, neboť ta vyžaduje dlouhodobější podnět.

2.2.3.5. Krevní doping

Výše zmíněná vlastnost EPO, schopnost stimulovat tvorbu erytrocytů a tedy zvýšit transportní kapacitu krve pro kyslík, se zneužívá ke krevnímu dopingů v „EPO technologii“. To představuje několikátýdenní podávání tzv. rekombinantního lidského EPO (rhEPO) sportovcům. Tento rhEPO se standardně používá v medicíně jako lék při závažných onemocněních, především u anemických pacientů s poruchami funkce ledvin (Pyšný 1998).

Zakázané podání rhEPO se dokazuje dvojím způsobem. Přímá metoda zjišťuje EPO přímo v krvi. Důkazem při dopingové kontrole je rozdíl mezi vlastním a rekombinantním (proti pravidlům podaným) EPO, který má odlišné složení oligosacharidových řetězců. Problém je, že to lze zjistit jen pár hodin po podání rhEPO, neboť ten má velmi krátký poločas rozpadu (viz kapitola 2.2.3.4.). Mezi nepřímé metody stanovení patří měření krevního hematokritu. Pokud je zjištěno, že sportovec má hematokrit přesahující 50 %, je poslán na 14 dní do pracovní neschopnosti, ale nemůže být potrestán za doping (platí ve většině sportů). Poté se test provede znovu, je totiž možné, že předchozí výsledek měření byl ovlivněn například výrazným odvodněním organismu v důsledku náročné přípravy nebo v důsledku vlastního závodu.

Existují i další nepovolené metody zvyšování množství červených krvinek v těle. Patří mezi ně autotransfúze, podání vlastní krve odebrané asi 3 týdny předem (tzv. krevní doping). Naopak povolený je dlouhodobý pobyt a trénink ve vysokohorském prostředí nebo dočasný pobyt (8–18 hodin denně) v hypoxickém stanu, který simuluje tyto podmínky. Tento způsob zvyšování transportní kapacity pro kyslík využívá řada špičkových sportovců (viz www.hypoxico.com) včetně olympijské vítězky Kateřiny Neumannové (Matoušková).

Nepovolené podávání EPO může být pro člověka velmi nebezpečné. Krev nadměrně zhoustne (hematokrit někdy dosahuje hodnot i vyšších než 55 – 60 %) a zvýší se její viskozita. Jedinci s takto vysokým hematokritem jsou pak ohroženi vznikem krevní sraženiny

v koronárních či mozkových cévách a to nejčastěji ve spánku nebo při dlouhých přesunech (Jenschke). Dalším rizikem je rozvoj **srdečního selhání**. Při vzrůstu hematokritu o 10 % vzroste dynamická viskozita krve o 33 %. Pro zachování konstantního průtoku krve cévami s průměrem nad 0,5 mm musí tedy lineárně stoupnout tlak v artériích (také o 33%). V důsledku se zvýší mechanická srdeční práce. Extrémně namáhaný myokard sportovců pak takovou zátěž nemusí zvládnout a může dojít k jeho nezvratným patologickým změnám až srdečnímu selhání.

2.3. Cíle práce

Oddělení vývojové kardiologie Fyziologického ústavu AV ČR se dlouhodobě zabývá vlivem chronické hypoxie na myokard. Má práce je součástí tohoto projektu a jejím cílem bylo:

- 1) Zjistit, jak ovlivní adaptace na permanentní normobarickou hypoxii tělesný růst laboratorního potkana, velikost jeho srdce a hodnoty hematokritu.
- 2) Zjistit, jak intermitentní formy chronické hypoxie (normobarická a hypobarická) ovlivní sledované parametry a zda může hrát roli omezení přístupu k potravě a pití v průběhu dne.

3. METODY

Pro pokusy byli použiti dospělí samci laboratorního potkana kmene Wistar z chovu fa. Velaz (Česká Republika) o hmotnosti 230-270 g. Zvířata byla během adaptace (2 měsíce) krmena standardní laboratorní dietou (ST-1, Bergman, Česká Republika). Veškeré experimenty byly prováděny pod kvalifikovaným dohledem školitele v souladu se zákonem na ochranu zvířat proti týrání (§ 17 zákona ČNR č. 246/1992 Sb.).

3.1. Modely adaptace na chronickou hypoxii

Laboratorní potkany jsme adaptovali na hypoxické podmínky s využitím dvou typů komor. V prvním případě se jednalo o **hypobarickou hypoxickou komoru** (obr. 5), kde je sníženého množství O_2 docíleno odčerpáním části vzduchu pomocí vakuové pumpy. Jedná se tedy jak o pokles množství O_2 (hypoxie) tak o snížení barometrického tlaku (hypobarie). Tato komora simuluje pokles množství O_2 ve vzduchu jakého lze dosáhnout přesunem do vysokohorském prostředí. Tab. 1 pak ukazuje, jaký je vztah mezi nadmořskou výškou a množstvím O_2 ve vzduchu. V našich experimentech jsme potkany adaptovali na výšku 5 500 metrů, která odpovídá přibližně poloviční koncentraci O_2 ve vzduchu, tj. 10 %.



Obr. 5. Hypobarická hypoxická komora. Regulační jednotka (vlevo) udržuje požadovanou nadmořskou výšku (hypoxii) kontrolovaným přívodem vzduchu do komory.

Tab. 1. Vztah mezi nadmořskou výškou a množstvím O₂ ve vzduchu

Nadmořská výška	P _B (barometrický tlak)		Procentuální zastoupení O ₂
	kPa	atm	
0	101.3	1.00	20.95
1000	89.9	0.89	18.6
2000	79.5	0.79	16.4
3000	70.1	0.69	14.5
4000	61.6	0.61	12.8
5000	54.0	0.53	11.2
5500	50.5	0.50	10.4
6000	47.2	0.47	9.7
7000	41.1	0.41	8.5
8000	35.6	0.35	7.4
9000	30.8	0.30	6.4



Obr. 6. Normobarická hypoxická komora.
Množství O₂ v komoře ukazuje obrazovka.
Počítač reguluje spuštěním nebo vypínáním
generátorů hypoxického vzduchu (vpravo)
aktuální množství O₂ v komoře.

Druhá, **normobarická hypoxická komora** (obr. 6) pracuje na odlišném principu. Zde je pomocí speciálních generátorů (fa. Hypoxico, USA) ze vzduchu odjímán O_2 a výsledný hypoxický vzduch je čerpán do vzduchotěsné místnosti, ve které se nacházejí laboratorní zvířata. Konstrukce komory umožňuje vstupovat do ní v průběhu experimentů a pracovat s laboratorními zvířaty přímo v hypoxii. V našich pokusech byla zvolena stejná hypoxie jako v případě hypobarické hypoxické komory, tedy 10 % O_2 .

3.2. Experimentální skupiny

Pokusy byly provedeny na šesti skupinách zvířat po 5 jedincích.

Charakteristika skupin:

1. a 2. skupina (**Norm I., Norm II.)** **Kontroly**

Potkani byli chováni po celou dobu v normoxických podmínkách.

3. skupina (**PNH**) **Permanentní normobarická hypoxie**

Zvířata byla chována po celou dobu experimentu v normobarické hypoxické komoře.

4. skupina (**IHH**) **Intermitentní hypobarická hypoxie**

Zvířata byla umístěna po dobu 8 h denně, 5 dní v týdnu v hypobarické hypoxické komoře a po tuto dobu neměla přístup k potravě a pití.

5. skupina (**INH**) **Intermitentní normobarická hypoxie**

Zvířata byla umístěna po dobu 8 h denně, 5 dní v týdnu v normobarické hypoxické komoře a po tuto dobu neměla přístup k potravě a pití.

6. skupina (**INH+J**) **Intermitentní normobarická hypoxie + potrava/pití**

Zvířata byla adaptována jako skupina INH, ale navíc měla přístup k potravě a pití.

3.3. Prováděná měření

Minimálně jednou týdně jsme každého jedince zvážili a odebrali mu krev z ocasu. To se provádí následovně: jemně nastříhneme ocásek, ze kterého začne vytékat krev, ke kapce přiložíme skleněnou heparinizovanou kapiláru a krev necháme vzlínat přibližně do $\frac{3}{4}$ její délky, načež jeden konec uzavřeme těsnící hmotou. Kapiláry jsme dále umístili do drážek hematologické mikrocentrifugy (Micro 20, fa. Hettich, Německo; obr. 7), vždy uzavřeným koncem ven od středu rotace, nejlépe v protilehlé poloze. Vzorky jsme zajistili krytem a poklopem. Teprve pak byl uveden přístroj do chodu. K rozdělení krve jsme centrifugovali

kapiláry po dobu 5 min při 10000 otáčkách za minutu. Hematokrit je podíl červených krvinek v krvi, tedy jsme jej měřili v procentech pomocí měřícího zařízení s běžcem.

V poslední části mých pokusů jsme zjišťovali vliv různých forem adaptace na chronickou hypoxii na velikost myokardu potkana. Potkani byli usmrceni vysokou dávkou anestetika (Thiopental sodný, fa. ICN, Česka Republika; 60 mg/kg intraperitoneálně), srdce bylo vyjmuté z hrudníku, propláchnuto fyziologickým roztokem a rozděleno na septum, levou a pravou komoru. Tuto část experimentů prováděl školitel. Tři části myokardu jsme zvážili a zaznamenali jejich hmotnosti. Vzorky pak byly zmrazeny v kapalném dusíku.

Výsledky měření jsme ukládali do tabulek (MS Excel) a společně se školitelem jsme je statisticky a graficky zpracovali programem GraphPad Prism 3.00.



Obr. 7. Hematologická mikrocentrifuga.

4. VÝSLEDKY

V pilotních experimentech jsem se naučila obsluhovat hypoxické komory, pracovat s laboratorními potkany, vážit je, odebírat jim krev z ocasu do kapilár a stanovovat hematokrit mikrocentrifugací. Po úplném zaškolení jsme mohli přistoupit k vlastním plánovaným experimentům.

4.1. Permanentní normobarická hypoxie

Permanentní pobyt potkanů v normobarické hypoxické komoře (skupina PNH) vedl ke zpomalení jejich tělesného růstu. Statisticky významný rozdíl v tělesných hmotnostech mezi hypoxickou a kontrolní skupinou (skupina Norm I.) jsem však zjistila až po 60 dnech adaptace (obr. 8A,B), skupina PNH byla přibližně o 10 % lehčí.

Umístění potkanů do hypoxie způsobilo rychlý nárůst množství erytrocytů v krvi, což jsem zaznamenala již po 24 hodinách (obr. 9A). Po 15-20 dnech adaptace se vzestup hodnot hematokritu zastavil asi na 60 %, což jsou o jednu pětinu vyšší hodnoty než u normoxických potkanů. Hematokrit se pak již významně nezměnil až do konce experimentu (obr. 9A,B).

4.2. Intermitentní normobarická a hypobarická hypoxie

Intermitentní adaptace potkanů v hypobarické hypoxické komoře (skupina IHH) vedla k nejvýraznějšímu zpomalení tělesného růstu v porovnání s ostatními studovanými formami hypoxie. Tělesná hmotnost na konci experimentu dosahovala u této skupiny pouze 84 % hmotnosti kontrolních normoxických potkanů (skupina Norm II.). U obou experimentálních skupin adaptovaných v normobarické hypoxické komoře (skupina INH, INH+J) jsme statisticky významné zpomalení růstu nezjistili, jejich tělesná hmotnost se nelišila od normoxických jedinců (obr. 10A,B). Významně vyšší hmotnost potkanů adaptovaných v normobarických podmínkách (skupina INH, INH+J) vůči skupině IHH svědčí o zásadním vlivu hypobarické hypoxie na tělesný růst, především v prvních týdnech adaptace (obr. 10A,B).

Dále se podle očekávání ukázalo, že všechny skupiny intermitentně adaptovaných potkanů mají výrazně vyšší hematokrit oproti normoxické skupině. A to zejména u skupiny IHH, kde byly hodnoty hematokritu na konci experimentu o 2/5 vyšší než u normoxických jedinců, což odpovídá reálným hodnotám okolo 70 %. V případě skupin potkanů adaptovaných intermitentně v normobarické komoře (skupina INH, INH+J) byl vzestup hematokritu menší a dosahoval nárůstu přibližně o jednu pětinu (obr. 11A,B). V porovnání

s potkany adaptovanými v hypobarické komoře (skupina IHH) se tedy ukázal významně menší efekt normobarické hypoxie na tvorbu červených krvinek. Hematokrit stoupal u všech hypoxických skupin do 15-20 dne experimentu, stejně jako v první sérii pokusů, a dále se již významně nezměnil. Ve dvou sledovaných měření nebyl zjištěn významný rozdíl mezi skupinami Norm II. a INH nebo INH+J, což bylo pravděpodobně způsobeno větším rozptylem naměřených hodnot.

Srovnání skupin INH a INH+J ukázalo, že 8 hodin denně bez pití a potravy nemá zásadní vliv na adaptační změny vyvolané chronickou hypoxií.

4.3. Vliv různých forem chronické hypoxie na velikost srdce

Po dvou měsících adaptace jsme se školitelem na závěr našich experimentů zjišťovali, jak ovlivnily různé formy adaptace velikost jednotlivých částí srdce. Zjistili jsme, že všechny použité formy adaptace vedly k významnému zvýšení relativní velikosti pravé komory srdeční vztažené ke hmotnosti těla (PK/HT), což svědčí o její hypertrofii (obr. 12A,B). K více než 50 % nárůstu PK/HT oproti normoxickým kontrolám došlo u skupin PNH a IHH. U potkanů adaptovaných intermitentně v normobarické komoře (skupina INH, INH+J) se zvýšil poměr PK/HT o 15 %, což bylo významně méně oproti ostatním hypoxickým skupinám (obr. 12A,B). V absolutních hodnotách byla zjištěna významně větší hmotnost pravé komory u potkanů adaptovaných intermitentně v hypobarické komoře (skupina IHH) nebo permanentně v normobarické komoře (skupina PNH; Tab. 2). Ke stejnému výsledku jsme také dospěli vyjádřením velikosti pravé komory jako tzv. pravolevý index, tedy poměrem hmotnosti pravé komory k hmotnosti levé komory a septa (Tab. 2).

Žádná z adaptací v normobarické komoře (skupina PHN, INH, INH+J) významně neovlivnila relativní velikost levé komory (LK/HT) na rozdíl od hypobarické hypoxie (skupina IHH), kde jsme mírný, ale statisticky významný nárůst LK/HT (o 11 %) zjistili (obr. 12C,D). Mírná hypertrofie levé komory u skupiny IHH nebyla patrná, pokud jsme porovnávali pouze absolutní hmotnosti (Tab. 2).

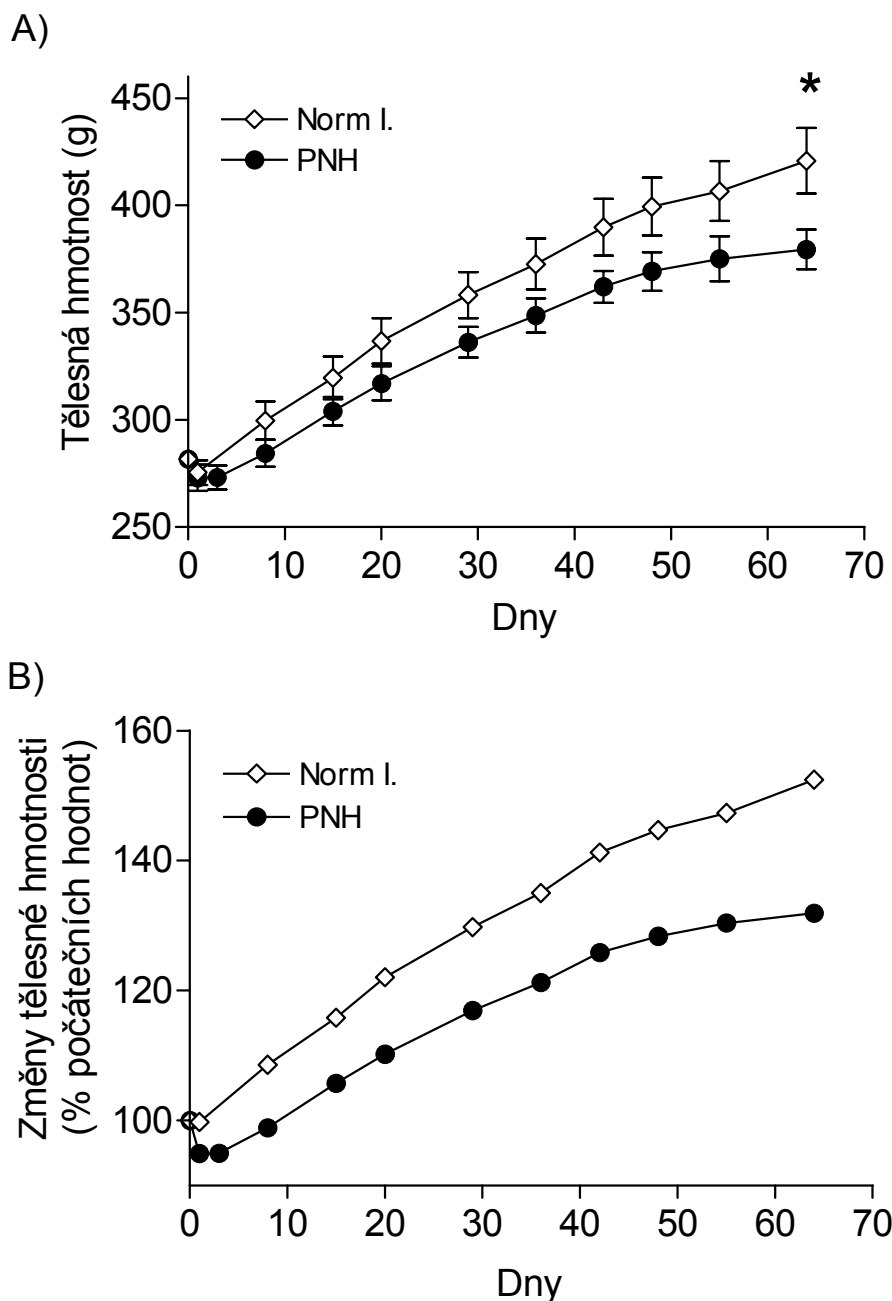
Tab. 2. Hmotnost těla (HT), pravé (PK) a levé komory (LK) a septa (S) a pravo-levý index srdeční (PK/(LK+S)) chronicky hypoxických potkanů adaptovaných podle různých protokolů.

	HT (g)	PK (mg)	LK (mg)	S (mg)	PK/(LK+S)
<i>1. série</i>					
Norm I.	421±15	184±10	469±27	253±14	0.256±0.003
PNH	379±9*	258±7*	433±18	196±4	0.414±0.010*
<i>2. série</i>					
Norm II.	373±7	145±2	420±5	180±4	0.241±0.002
IHH	314±15*	197±7*	395±13	167±2	0.351±0.005*
INH	344±15	156±9 [#]	410±16	172±7	0.267±0.005 [#]
INH+J	359±13	156±5 [#]	427±14	161±2	0.266±0.008 [#]

Norm I. a Norm II, potkani chovaní v normoxii; PNH, potkani adaptovaní na permanentní hypoxii v normobarické komoře; IHH, potkani adaptovaní intermitentně v hypobarické hypoxické komoře; INH, potkani adaptovaní intermitentně v normobarické hypoxické komoře; INH+J, potkani adaptovaní intermitentně v normobarické hypoxické komoře s dostupnou potravou a pitím při 8 h hypoxii. Hodnoty jsou uvedeny jako průměr a střední chyba průměru z pěti měření.

* označuje měření, ve kterých se skupiny PNH, IHH statisticky lišily na 5 % hladině významnosti ($P<0.05$) od skupiny Norm I. nebo Norm II.

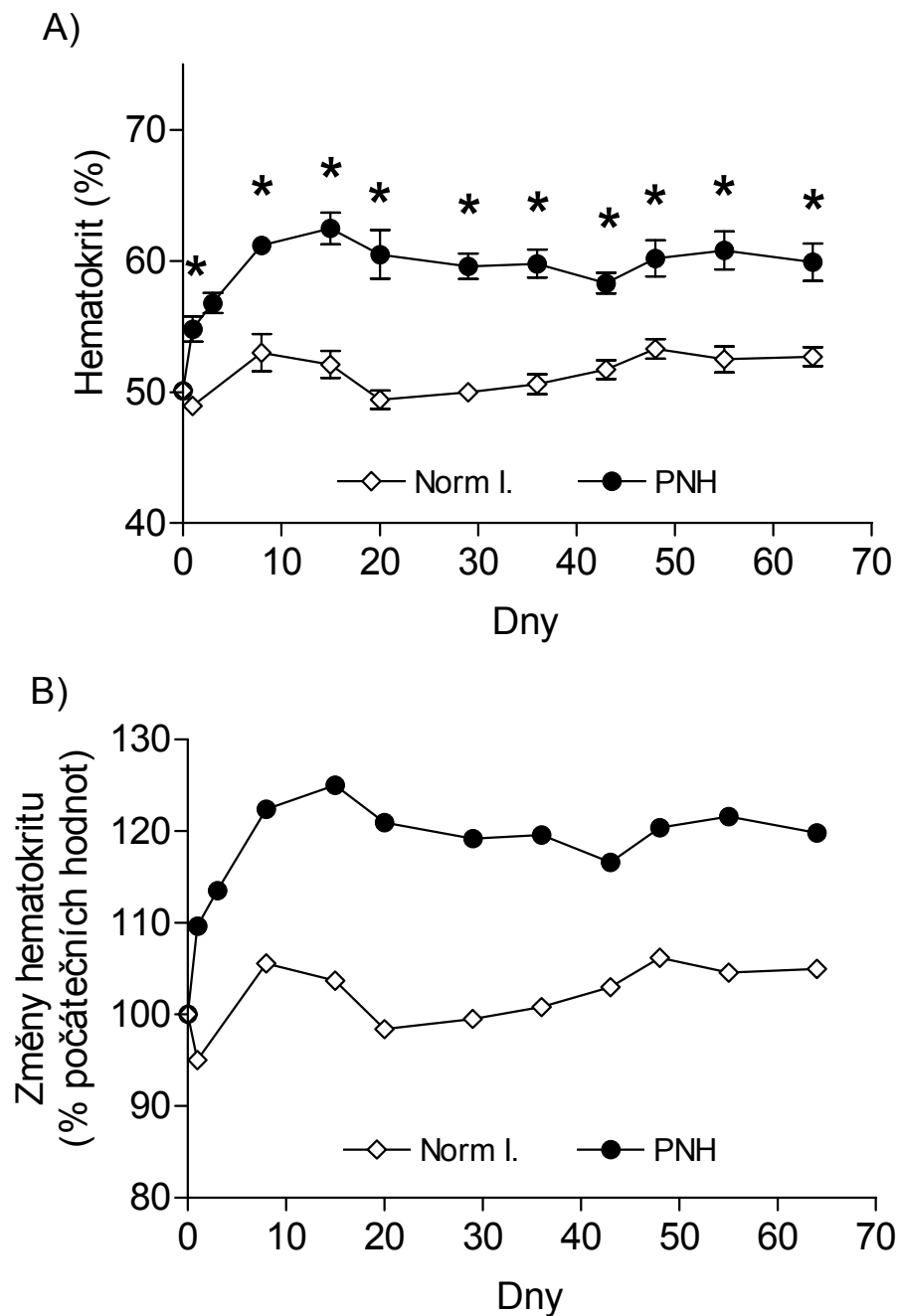
[#] označuje měření, ve kterých se skupiny INH a INH+J statisticky lišila na 5 % hladině významnosti ($P<0.05$) od skupiny IHH.



Obr. 8. Vliv permanentní normobarické hypoxie na tělesný růst.

A) Absolutní tělesná hmotnost; B) Změny tělesné hmotnosti v % počátečních hodnot; Norm I., potkani chovaní v normoxii; PNH, potkani adaptovaní na permanentní normobarickou hypoxii. Hodnoty jsou uvedeny jako průměr z pěti měření, graf A) ukazuje také střední chyby průměru.

* označuje měření, ve kterých se obě skupiny statisticky lišily na 5 % hladině významnosti ($P < 0.05$).

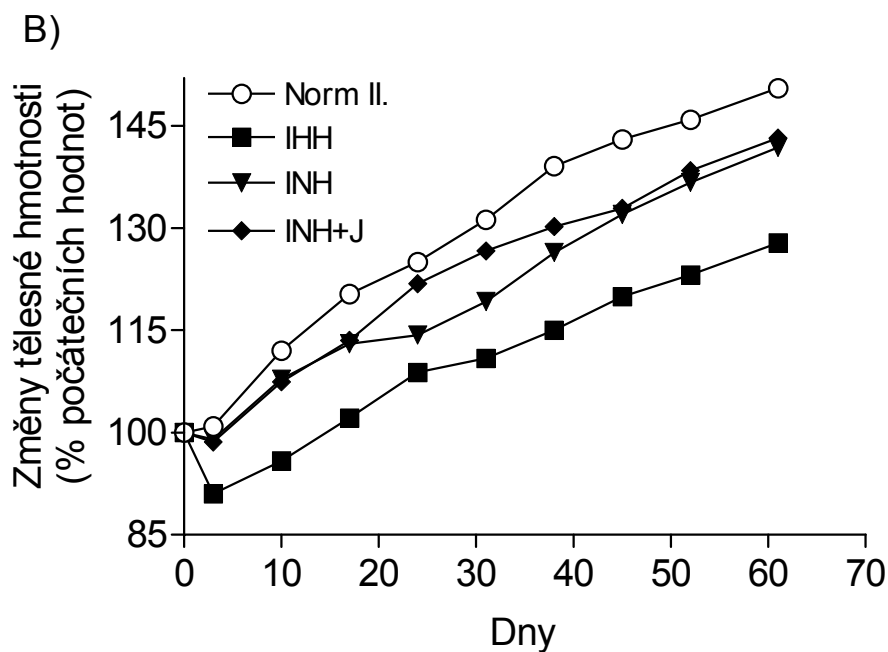
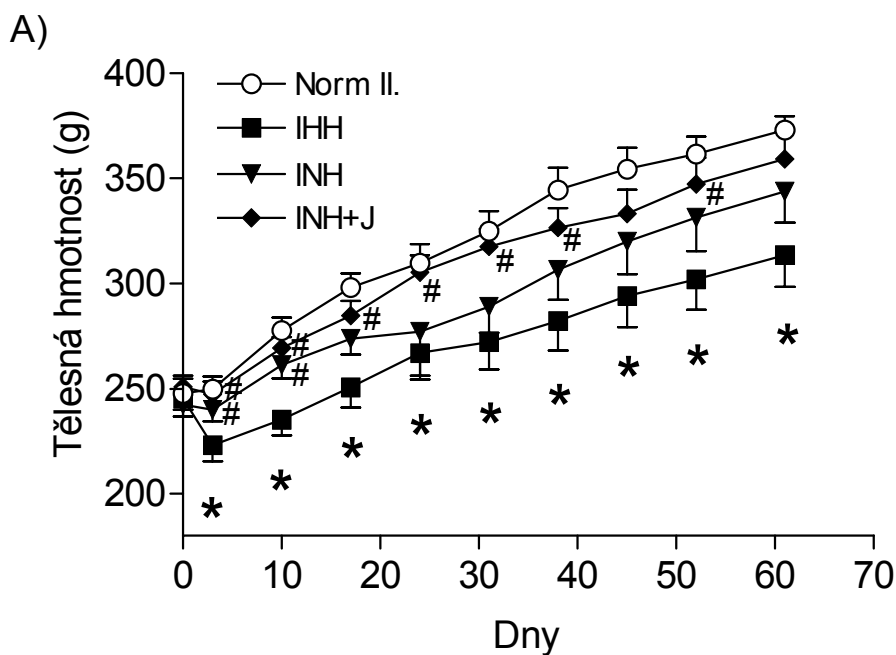


Obr. 9. Vliv permanentní normobarické hypoxie na hodnoty hematokritu.

A) Absolutní hodnoty hematokritu; B) Změny hematokritu v % počátečních hodnot;

Norm I., potkani chovaní v normoxii; PNH, potkani adaptovaní na permanentní normobarickou hypoxii. Hodnoty jsou uvedeny jako průměr z pěti měření, graf A) ukazuje také střední chyby průměru.

* označuje měření, ve kterých se obě skupiny statisticky lišily na 5 % hladině významnosti ($P < 0.05$).

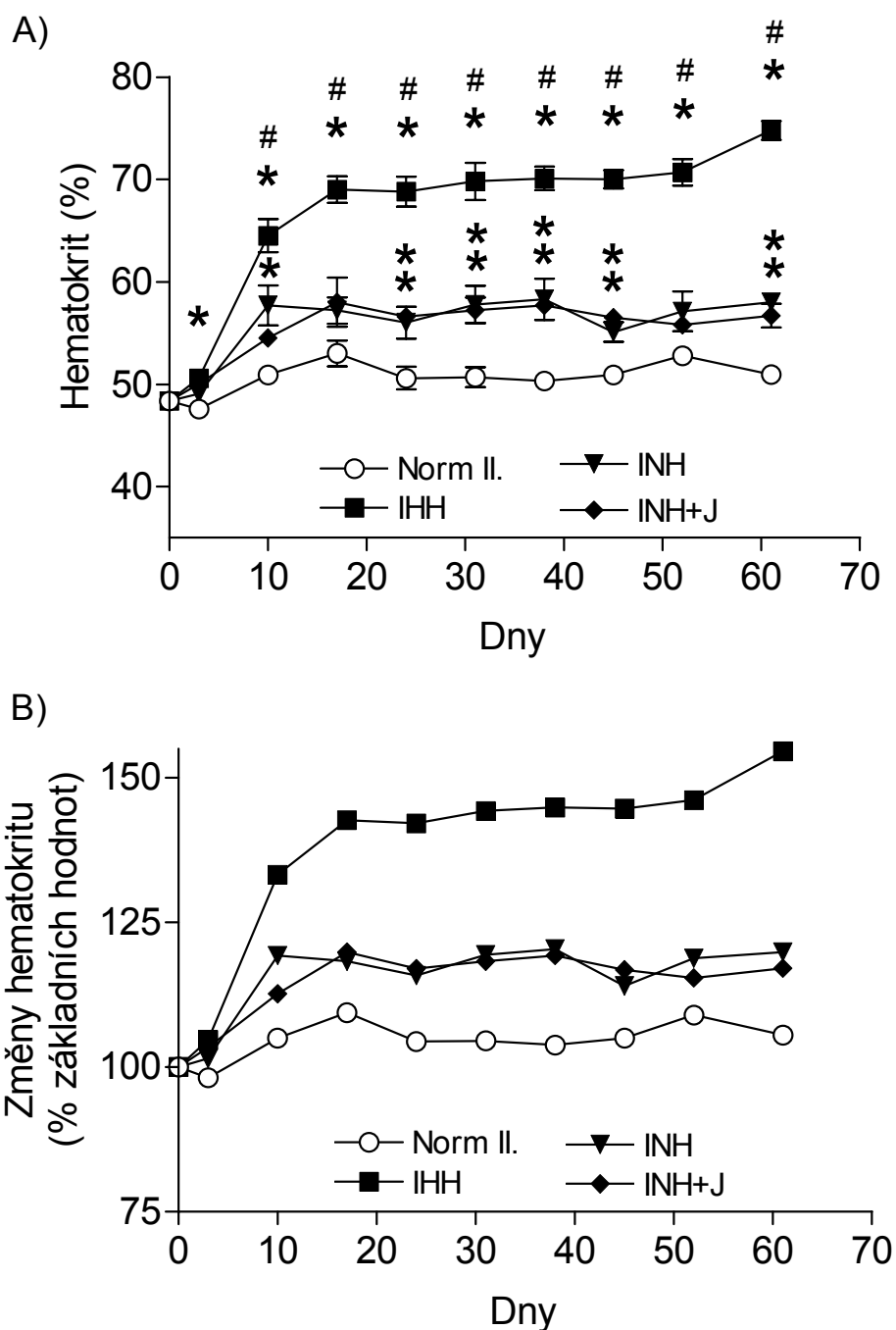


Obr. 10. Vliv intermitentní normobarické a hypobarické hypoxie na tělesný růst.

A) Absolutní tělesná hmotnost; B) Změny tělesné hmotnosti v % počátečních hodnot; Norm II., potkani chovaní v normoxii; IHH, potkani adaptovaní v hypobarické hypoxické komoře; INH, potkani adaptovaní v normobarické hypoxické komoře; INH+J, potkani adaptovaní v normobarické hypoxické komoře s dostupnou potravou a pitím při 8 h hypoxii. Hodnoty jsou uvedeny jako průměr z pěti měření, graf A) ukazuje také střední chybu průměru.

* označuje měření, ve kterých se skupina IHH statisticky lišila na 5 % hladině významnosti ($P < 0.05$) od skupiny Norm II.

označuje měření, ve kterých se skupiny INH nebo INH+J statisticky lišily na 5 % hladině významnosti ($P < 0.05$) od skupiny IHH.

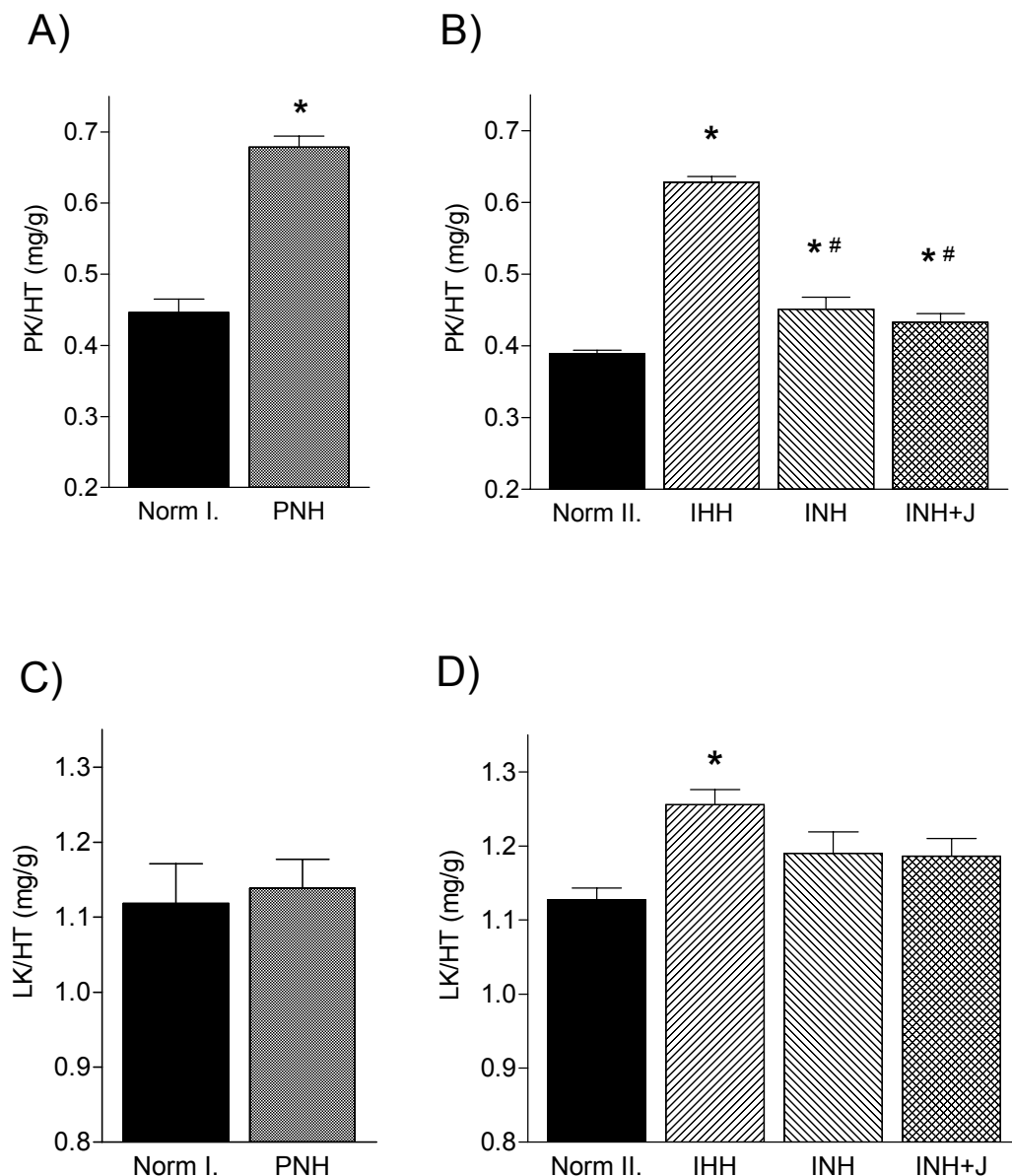


Obr. 11. Vliv intermitentní normobarické a hypobarické hypoxie na hodnoty hematokritu.

A) Absolutní hodnoty hematokritu; B) Změny hematokritu v % počátečních hodnot; Norm II., potkani chovaní v normoxii; IHH, potkani adaptovaní v hypobarické hypoxické komoře; INH, potkani adaptovaní v normobarické hypoxické komoře; INH+J, potkani adaptovaní v normobarické hypoxické komoře s dostupnou potravou a pitím při 8 h hypoxii. Hodnoty jsou uvedeny jako průměr z pěti měření, graf A) ukazuje také střední chybu průměru.

* označuje měření, ve kterých se skupiny IHH, INH nebo INH+J statisticky lišily na 5 % hladině významnosti ($P < 0.05$) od skupiny Norm II.

označuje měření, ve kterých se skupina IHH statisticky lišila na 5 % hladině významnosti ($P < 0.05$) od skupin INH a INH+J.



Obr. 12. Relativní změny hmotnosti srdečních komor.

A) a C) 1.série experimentů; B) a D) 2. série experimentů. PK/HT, relativní hmotnost pravé komory (PK, hmotnost pravé komory; HT, hmotnost těla); LK/HT, relativní hmotnost levé komory (LK, hmotnost levé komory); Norm I. a Norm II, potkani chovaní v normoxii; PNH, potkani adaptovaní na permanentní hypoxii v normobarické komoře; IHH, potkani adaptovaní intermitentně v hypobarické hypoxické komoře; INH, potkani adaptovaní intermitentně v normobarické hypoxické komoře; INH+J, potkani adaptovaní intermitentně v normobarické hypoxické komoře s dostupnou potravou a pitím při 8 h hypoxii. Hodnoty jsou uvedeny jako průměr a střední chyba průměru z pěti měření.

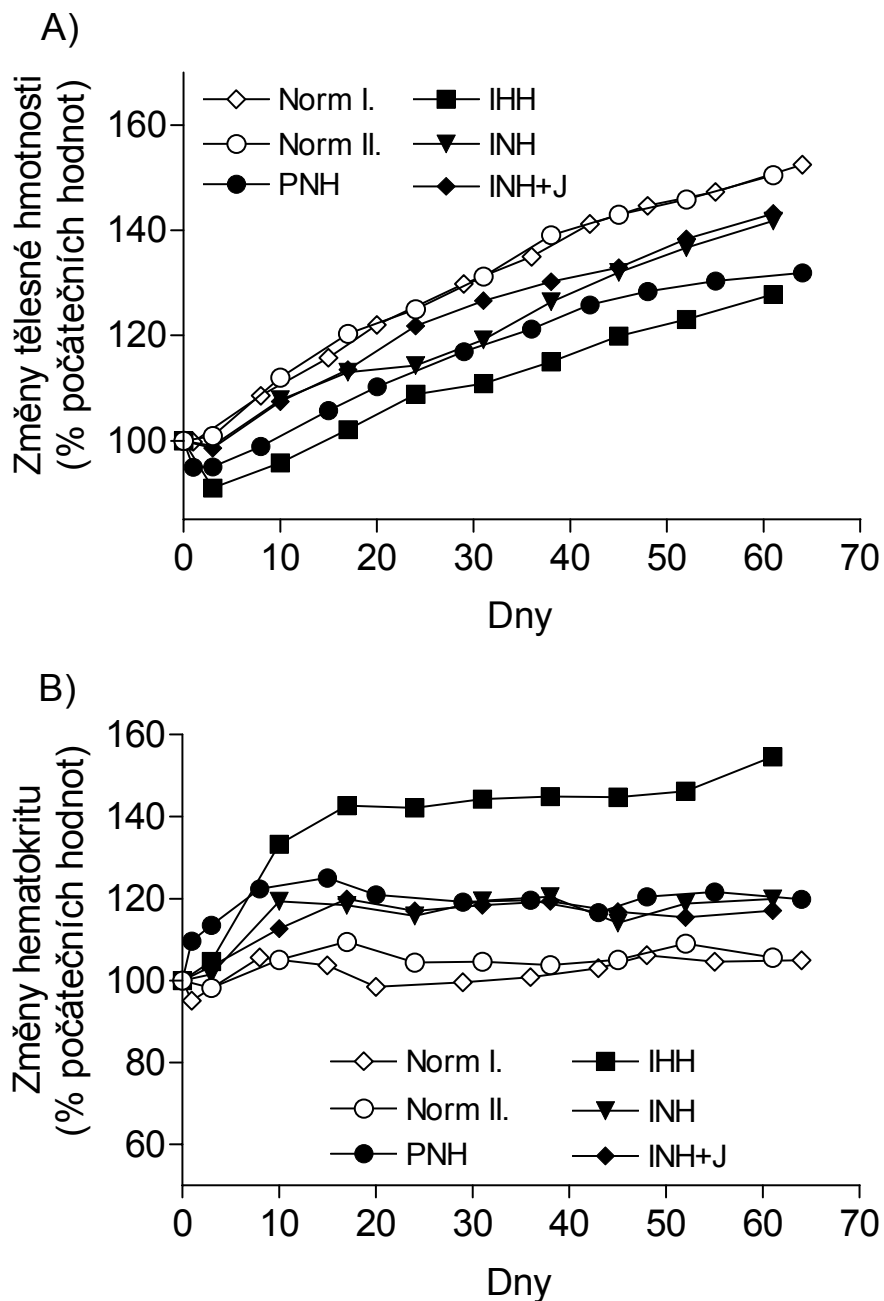
* označuje měření, ve kterých se skupiny PNH, IHH, INH nebo INH+J statisticky lišily na 5 % hladině významnosti ($P < 0.05$) od skupiny Norm I. nebo Norm II.

označuje měření, ve kterých se skupiny INH a INH+J statisticky lišila na 5 % hladině významnosti ($P < 0.05$) od skupiny IHH.

5. SHRNUTÍ

Výsledky mého projektu ukázaly řadu zajímavých a nových výsledků poukazujících na rozdílný vliv různých forem chronické hypoxie na kardiovaskulární systém. Především zjištění nejvýraznějšího vlivu intermitentní hypobarické hypoxie (skupina IHH) na sledované parametry je novým poznatkem. Porovnání skupin INH a INH+J dále ukázalo, že 8 h denně bez pití a potravy nemá u potkanů zásadní vliv na adaptační změny vyvolané chronickou hypoxií. Dříve publikované výsledky studií provedené na modelu adaptace na IHH (také bez potravy a pití), tedy nebyly krátkodobým hladověním v hypoxické komoře ovlivněny.

Obr. 13A,B shrnuje měření tělesné hmotnosti a hematokritu v obou sériích provedených experimentů. Je zde patrné, že ačkoli jsme experimenty prováděli ve dvou nezávislých pokusech, změny tělesné hmotnosti a hodnoty hematokritu u obou normoxických skupin jsou prakticky totožné (skupina Norm I. a Norm II.). To svědčí o dostatečně přesném provádění měření v obou sériích pokusů. Srovnání dále ukázalo, že intermitentní hypobarická hypoxie (skupina IHH) vyvolává nejvýraznější vzestup hematokritu a zpomalení tělesného růstu ze všech sledovaných forem adaptace. Dostatečné vysvětlení tohoto poznatku chybí. Analýzou odborné literatury jsme zjistili, že srovnáním vlivu normobarické a hypobarické hypoxie byla dosud věnována velmi malá pozornost a když, tak pouze v souvislosti s akutními fyziologickými účinky hypoxie. O to víc jsou dosažené výsledky u dlouhodobě adaptovaných potkanů cenné. O „specifickém vlivu hypobarické hypoxie“ na kardiovaskulární systém, který se projevuje prohloubením adaptačních změn, se zmiňuje Savourey a kol. (2003), který sledoval akutní efekt obou forem hypoxie na saturaci krve kyslíkem a dýchací parametry u lidí. Podobně hypobarická hypoxie vedla k častějšímu výskytu experimentálně navozené horské nemoci (komplex příznaků vyskytujících se u lidí ve velkých výškách, způsobený nedostatkem kyslíku a nedostatečnou aklimatizací) v porovnání s jedinci testovanými v normobarické hypoxické komoře (Roach a kol. 1996). Stanovení hmotností jednotlivých částí srdcí potkanů také ukázalo, že intermitentní hypobarická hypoxie má největší vliv na adaptaci myokardu k hypoxii. IHH vedla nejen ke vzniku výrazné hypertrofie pravé komory, ale i komory levé, což bylo zjištěno pouze u této experimentální skupiny. Zdá se tedy, že opakovaný hypoxický stres (intermitentní hypoxie) spojený s hypobarií mohou být faktory, které se společně podílejí na rozvoji pro organismus škodlivé systémové hypertenze (Semenza 2006). Rozvoj negativních důsledků adaptace na chronickou hypoxii pak může zásadně ovlivnit její pozitivní působení, kardioprotektivní účinek (Kolář a Ošťádal 2004).



Obr. 13. Změny tělesné hmotnosti (A) a hematokritu (B): účinek různých forem adaptace. Norm I. a Norm II, potkani chováni v normoxii; PNH, potkani adaptovaní na permanentní normobarickou hypoxii; IHH, potkani adaptovaní intermitentně v hypobarické hypoxické komoře; INH, potkani adaptovaní intermitentně v normobarické hypoxické komoře; INH+J, potkani adaptovaní intermitentně v normobarické hypoxické komoře s dostupnou potravou a pitím při 8 h hypoxii. Hodnoty jsou uvedeny jako průměr z pěti měření.

Na začátku adaptace u skupiny potkanů pobývajících po celou dobu experimentu v normobarické hypoxické komoře nejrychleji stoupal hematokrit (skupina PNH; obr. 13B). Rychlé zvýšení hodnot hematokritu lze vysvětlit akutním snížením objemu plazmy, vyplavením dozrávajících prekurzorů erytrocytů retikulocytů do krevního řečiště a kontrakcí sleziny (vypuzení části erytrocytů), které mohou akutně zvýšit zastoupení krevních buněk v krvi (Hogan a kol. 1973). Permanentní normobarická hypoxie (skupina PNH) také zvýšila hmotnost pravé komory v podobném rozsahu jako intermitentní hypobarická hypoxie (skupina IHH), obě formy intermitentní normobarické hypoxie (skupiny INH a INH+J) však měly významně menší vliv na rozvoj hypertrofie pravé komory. Jak permanentní (skupina PNH) tak intermitentní (skupina INH, INH+J) normobarická hypoxie však vedla ke stejnému zvýšení hematokritu, který 15-20 den adaptace dosáhl maxima (nárůst o 20 %) a až do konce experimentu se výrazně nezměnil. Tyto poznatky svědčí o skutečnosti, že odlišná hypoxická zátěž (skupiny PNH byla v hypoxickém prostředí více jak čtyřikrát delší dobu v porovnání se skupinami INH a INH+J) významně ovlivňuje adaptaci myokardu, ale nepodílí se na hypoxií vyvolaném zvýšení hematokritu.

6. ZÁVĚR

Dosažené výsledky lze shrnout následovně:

Adaptace potkanů po dobu 2 měsíců na chronicky hypoxické podmínky vede k ovlivnění jejich tělesného růstu, nárůstu hematokritu a hypertrofii srdce v závislosti na použitém modelu hypoxie.

- 1) Intermitentní hypobarická hypoxie vyvolala největší sledované změny v porovnání s ostatními modely. Zjistili jsme významné zpomalení tělesného růstu, značný vzestup hematokritu, závažnou hypertrofii pravé komory srdeční, ale i mírnou hypertrofii komory levé.
- 2) Permanentní normobarická hypoxie výrazně zvýšila hmotnost pravé komory srdeční, efekt hypoxie na vzestup hematokritu a tělesný růst byl méně závažný.
- 3) Intermitentní normobarická hypoxie vedla ke vzniku pouze mírné hypertrofie pravé komory, její vliv na vzestup hematokritu byl podobný jako v případě permanentní normobarické hypoxie.
- 4) Zdá se, že dostupnost potravy a pití v průběhu adaptace na intermitentní hypoxii nemá vliv na sledované parametry.

POUŽITÁ LITERATURA

- Asemu G, Neckář J, Szárszoi O, Papoušek F, Ošťádal B, Kolář F. Effects of adaptation to intermittent high altitude hypoxia on ischemic ventricular arrhythmias in rats. *Physiol Res* 49: 597-606, 2000.
- Ganong WF. Přehled lékařské fyziologie. 20. vydání, Galén, Praha, 2005.
- Hogan RP, Kotchen TA, Boyd AE, Hartley LH. Effect of altitude on renin-aldosterone systém and metabolism of water and electrolytes. *J Appl Physiol* 35: 385-390, 1973.
- Jenschke J, Nekola J, Chlumský J. Doping v číslech a komentářích. Remedia, <http://www.kpo.cz/fyziologie/fyziologie09-2.htm>
- Kittnar O. Fyziologické regulace ve schématech. Grada Publishing, Praha, 2000.
- Kolář F, Ošťádal B. Molecular mechanisms of cardiac protection by adaptation to chronic hypoxia. *Physiol Res* 53(Suppl 1):S3-13, 2004.
- Kolář F, Ošťádal B, Procházka J, Pelouch V, Rajecová O, Štrec V, Barta E. Age – dependent influence of a moderate altitude (1350 m) on the rat cardiopulmonary system. *Physiol Bohemoslov* 37: 443-449, 1988.
- Matoušková M. Doping, který se velmi těžko dokazuje. <http://kverek.webpark.cz/doping5.htm>
- Neckář J. Kardioprotektivní působení chronické hypoxie a jeho mechanizmy. Disertační práce, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze, 2005.
- Neckář J. Protektivní vliv chronické hypoxie na akutní ischemické poškození myokardu. Diplomová práce, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze, 1998.
- Neckář J, Ošťádal B, Kolář F. Myocardial infarct size-limiting effect of chronic hypoxia persists for five weeks of normoxic recovery. *Physiol Res* 53: 621-628, 2004.
- Ošťádal B, Kolář F. Experimentální modely hypoxie a ischemie myokardu. *Čs Fyziol* 37: 15-32, 1988.
- Ošťádal B, Widimský J. Intermittant hypoxia and cardiopulmonary systém. Academia, Prague, 1985.
- Pokorný J. Přehled fyziologie člověka II. díl. Skriptum, Universita Karlova, Karolinum, Praha, 1995.
- Pyšný L. Erythropoetin a zdraví sportovce. *Těl Vých Sport Mlád* 64: 9-10, 1998.
- Roach RC, Loeppky JA, Icenogle MV. Acute mountain sickness: increased Severiny dutiny simulated altitude compared with normobaric hypoxia. *J Appl Physiol* 81: 1908-1910, 1996.
- Rodríguez FA, Ventura JL, Casas M, Casas H, Pagés T, Rama R, Ricart A, Palacios L, Viscor G. Erythropoietin acute reaction and haematological adaptation to short, intermittent hypobaric hypoxia. *Eur J Appl Physiol* 82: 170-177, 2000.
- Savourey G, launay J-C, Bernard Y, Guinet A, Travers S. Normo- and hypobaric hypoxia: are there any physiological differences? *Eur J Appl Physiol* 89: 122-126, 2003.
- Semenza GL. Regulation of physiological response to continuous and intermittent hypoxia by hypoxia-inducible factor 1. *Exp Physiol* 91: 803-806, 2006.

Widimský J, Urbanová D, Ressler J, Ošťádal B, Pelouch V, Procházka J. Effect of intermittent altitude hypoxia on the myocardium and lesser circulation in the rat. *Cardiovasc Res* 7: 798-808, 1973.

Wikipedie, otevřená encyklopedie. <http://cs.wikipedia.org/wiki/Krvetvorba>

OBSAH

Použité zkratky	3
3. Úvod	4
4. Literární přehled	5
4.1. Chronická hypoxie	5
2.1.1. Kardioprotektivní účinky chronické hypoxie	6
2.1.2. Škodlivé působení chronické hypoxie	7
2.2. Krev	8
2.2.1. Funkce a složení krve	8
2.2.2. Hematopoéza	8
2.2.3. Erytrocyty	10
2.2.3.1. Vlastnosti	10
2.2.3.2. Hemoglobin	11
2.2.3.3. Tvorba a zánik erytrocytů	12
2.2.3.4. Erytropoetin	13
2.2.3.5. Krevní doping	14
2.3. Cíle práce	15
3. Metody	16
3.1. Modely adaptace na chronickou hypoxii	16
3.2. Experimentální skupin	18
3.3. Prováděná měření	18
4. Výsledky	20
4.1. Permanentní normobarická hypoxie	20
4.2. Intermitentní normobarická a hypobarická hypoxie	20
4.3. Vliv různých forem chronické hypoxie na velikost srdce	21
5. Shrnutí	27
6. Závěr	31
Použitá literatura	32