

9.1.4 Hematologie a biochemická analýza séra

Vzhledem k tomu, že chladová expozice je v literatuře spojována s poškozením ledvin (Fregly, 1982) a změnou krevních parametrů (Kralova Lesna et al., 2015b), byl stanoven v našich modelech krevní obraz a provedena biochemická analýza séra tomto ohledu. Hladina kyseliny močové byla signifikantně ~~zvýšená~~ **snížená** o 45 % **oproti kontrole, současně byla hladina o 52 % snížena u CLR ve srovnání s CL. ~~u CLR oproti kontrole a mezi CL a CLR byl rozdíl 52 %.~~ Hladiny cholesterolu a triacylglycerolů byly beze změn (Tab. 1). Výsledky krevního obrazu a biochemická analýza séra ukázaly následující **změny: V celkovém počtu bílých krvinek ani v počtu jejich subpopulací nebyl nalezen rozdíl. Avšak v procentuálním zastoupení populace lymfocytů došlo k poklesu po 3 dnech z 68 % na 55 %, na 59 % u 10D a 58 % po CLR. Populace monocytů procentuálně stoupla až po CLR z 3,1 na 4,2 %. Populace granulocytů vzrostla z 28,9 na 40,8 % po 3D, dále na 37,8 % po CLR.** ~~signifikantní snížení počtu lymfocytů u 3D o 20 %, u 10D o 12 % a u CLR o 15 %. Signifikantní nárůst granulocytů o 41 % u 3D. U CLR bylo zjištěno signifikantní navýšení granulocytů o 31 % a monocytů o 35 % od kontrolní skupiny.~~ Počet červených krvinek byl signifikantně snížen o 12 % a hladina hemoglobinu byla snížena o 7 % v 10D. Na rozdíl od průměrného objemu erytrocytů, který byl naopak zvýšen v 10D o 7 %. U CLR došlo k snížení o 5 %. A mezi CL a CLR byl signifikantní rozdíl 7 %. Stejný nálezn byl u průměrné koncentrace hemoglobinu v erytrocytech: signifikantní nárůst v 10D o 6 % a snížení o 6 % u CLR. Jak mezi 3D a 10D, tak i mezi CL a CLR byl signifikantní rozdíl 7 %. U 3D došlo k signifikantnímu snížení o 3 % a také v hladině MCHC vztaženého na hematokrit bylo snížení o 5 %. Distribuční šíře erytrocytů byla také zvýšená o 4 % v 10D. Počet krevních destiček byl signifikantně snížen u všech experimentálních skupin: 3D o 27 %, 10D o 29,5 %, CL o 27 % a CLR o 25 %.**

Experimentální skupiny	C	3D	10D	CL	CLR
n	6	6	6	6	6
<i>Krevní obraz</i>					
Počet bílých krvinek ($10^9/l$)	18,2 ± 6	19,0 ± 1	17,1 ± 2	16,3 ± 2	15,6 ± 4
Počet lymfocytů ($10^9/l$)	12,3 ± 4	10,5 ± 1	10,2 ± 1	10,4 ± 1	9,2 ± 3
Počet monocytů ($10^9/l$)	0,6 ± 0,3	0,7 ± 0,1	0,6 ± 0,1	0,6 ± 0,1	0,7 ± 0,2
Počet granulocytů ($10^9/l$)	5,3 ± 2	7,8 ± 1	6,3 ± 1	5,3 ± 1	5,8 ± 1
Lymfocyty (%)	68,0 ± 3	55,2 ± 4**	59,8 ± 2*	64,1 ± 4	58,0 ± 6**
Monocyty (%)	3,1 ± 0,5	3,8 ± 0,5	3,5 ± 0,4	3,8 ± 0,3	4,2 ± 0,5**
Granulocyty (%)	28,9 ± 3	40,8 ± 4**	36,7 ± 2	32,2 ± 4	37,8 ± 6*
Počet červených krvinek ($10^{12}/l$)	9,0 ± 0,5	8,6 ± 0,4	7,9 ± 0,2**	8,5 ± 0,4	9,5 ± 0,3##
Hemoglobin (g/l)	175,0 ± 13	165,3 ± 4*	162,2 ± 3*	164,0 ± 5	174,7 ± 3
Hematokrit (%)	53,3 ± 4	52,1 ± 2	50,2 ± 2	51,1 ± 2	53,4 ± 1
Průměrný objemu erytrocytů (fl)	59,2 ± 2	60,6 ± 1	63,6 ± 1***	60,3 ± 1	56,1 ± 2***
MCHC prům. obsah hemoglobinu (pg)	19,4 ± 0,4	19,2 ± 0,6	20,5 ± 0,2***##	19,3 ± 0,4	18,3 ± 0,5***
MCHC je hodnota vztažená na hematokrit (g/l)	328,0 ± 4	317,0 ± 6*	322,8 ± 5	321,0 ± 6	327,0 ± 4
Hodnoty distribuční křivky pro erytrocyty (%)	15,0 ± 0,4	15,1 ± 0,1	15,6 ± 0,3*	15,3 ± 0,3	14,9 ± 0,5
Počet krevních destiček ($10^9/l$)	2094,7 ± 323	1528,5 ± 222*	1476,5 ± 307**	1530,0 ± 99**	1572,3 ± 88*
Průměrný objem destičky (fl)	6,4 ± 0,1	6,6 ± 0,7	6,3 ± 0,2	6,4 ± 0,1	6,0 ± 0,3
Trombokrit (%)	16,9 ± 0,3	17,0 ± 0,3	17,1 ± 0,2	16,9 ± 0,1	16,6 ± 0,1
<i>Biochemická analýza séra</i>					
Cholesterol (umol/l)	2,3 ± 0,3	2,4 ± 0,4	2,4 ± 0,2	2,5 ± 0,4	2,3 ± 0,3
Triacylglycerol (umol/l)	2,0 ± 0,6	1,4 ± 0,4	2,0 ± 0,4	2,2 ± 0,3	2,3 ± 0,6
Kyselina močová (umol/l)	119,3 ± 42	86,0 ± 18	118,2 ± 16	102,2 ± 10	53,5 ± 9***

Tabulka 1: Krevní obraz a biochemická analýza séra ve zvolených chladových expozicích: 3 dny (3D), 10 dní (10D), 5 týdnů (CL), 5 týdnů chlad a 2-týdenní regrese (CLR) a u kontrol (C). Průměrná koncentrace hemoglobinu v erytrocytech (MCHC). Hodnoty představují průměrnou hodnotu se směrodatnou odchylkou (* $p < 0,05$). * $p < 0,05$ vs C; ** $p < 0,01$ vs C; *** $p < 0,001$ vs C; ~ ~ $p < 0,01$ vs 3D; ## $p < 0,01$ vs CL; # $p < 0,05$ vs CL; $n = 6$.

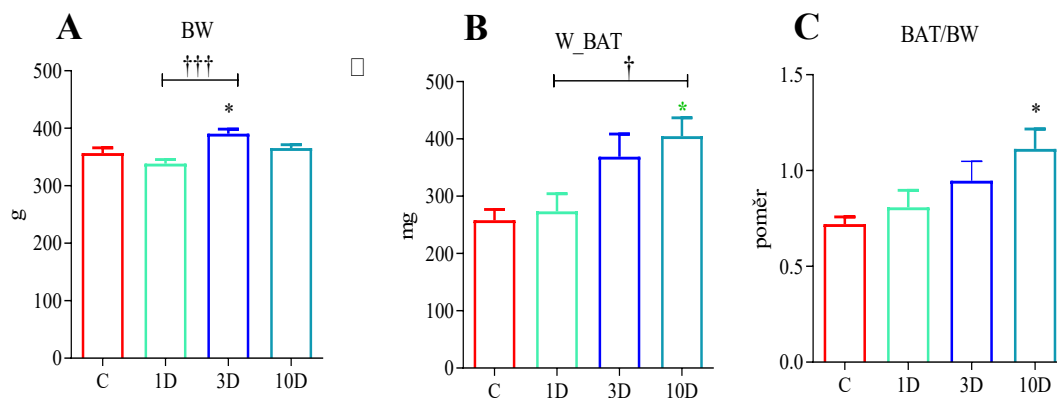
9.2 Ischemická tolerance srdce v počátcích chladové expozice (1 až 10 dní)

V rámci druhého cíle byla provedena na potkanech kmene Wistar z chovu Velaz s.r.o. Zaměřili jsme se na stanovení ischemické tolerance levé komory v počátcích chladové expozice po 1, 3 a 10 dnech. V počátcích chladové expozice byly stanoveny základní parametry: tělesná hmotnost (BW), hmotnost BAT, poměr BAT/BW, rektální teplota (RT), celková hmotnost srdce (HW), poměr hmotnosti levé komory srdeční ku hmotnosti těla (LV/BW), poměr hmotnosti pravé komory srdeční ku hmotnosti zvířete (RV/BW) a poměr hmotnosti celého srdce ku hmotnosti těla (HW/BW). ~~Ve 3 dnech chladové expozice (3D) bylo zjištěno signifikantní zvýšení HW o 15 % ve srovnání s kontrolní skupinou.~~ U skupiny 10D byl zjištěn signifikantní nárůst následujících parametrů oproti kontrolní skupině: hmotnosti BAT o 45 %, 54 %, poměr BAT/BW o 44 % 60 %, HW o 22 %, RV/BW o 35 % a HW/BW o 18 %. Ostatní parametry byly beze změny (Tab. 2).

Experimentální skupiny	Kontrola	1D	3D	10D
n	8	8	8	8
BW (g)	385 ± 16	363 ± 13	356 ± 21	370 ± 30
BAT (mg)	257 ± 47	270 ± 57	266 ± 86	396 ± 71**
BAT/BW	0,67 ± 0,12	0,74 ± 0,16	0,74 ± 0,23	1,07 ± 0,11***
RT (°C)	37,0 ± 0,23	36,9 ± 0,54	36,7 ± 0,27	36,9 ± 0,31
HW (mg)	1016 ± 83	1059 ± 79	1018 ± 58	1030 ± 86
LV/BW	2,07 ± 0,23	2,21 ± 0,26	2,24 ± 0,08	2,16 ± 0,13
RV/BW	0,57 ± 0,05	0,57 ± 0,06	0,61 ± 0,07	0,62 ± 0,07
HW/BW	2,64 ± 0,22	2,78 ± 0,26	2,86 ± 0,11	2,79 ± 0,12

Tabulka 2: Základní parametry: tělesná hmotnost (BW); hmotnost hnědé tukové tkáně (BAT); poměr BAT/BW; rektální teplota (RT); hmotnost celého srdce (HW); poměr hmotnosti levé komory srdeční ku hmotnosti těla (LV/BW), poměr hmotnosti pravé komory srdeční ku hmotnosti těla (RV/BW) a poměr hmotnosti celého srdce ku hmotnosti těla (HW/BW) u krátkodobé chladové expozice: 1 den (1D), 3 dny (3D), 10 dní (10D) a u kontroly (C). Hodnoty představují průměrnou hodnotu se směrodatnou odchylkou (* $p < 0,05$); * $p < 0,05$ vs C; ** $p < 0,01$ vs C; *** $p < 0,001$ vs C; $n = 8$).

Hmotnost potkanů v den experimentu byla v rozmezí: kontrola 356 ± 17 g, 1D 344 ± 5 g, 3D 387 ± 7 g, 10D 371 ± 5 g a skupiny se vzájemně signifikantně nelišily (Obr. 10A) (Obr. 12A). Hmotnost BAT u kontrolní skupiny byla 278 ± 20 mg, po 1 a 3 dnu se signifikantně nezměnila (1D 244 ± 29 mg; 3D 351 ± 27 mg), avšak po 10 dnech vzrostla na 414 ± 43 mg, což představuje signifikantní zvýšení o 149 % oproti kontrolní skupině (Obr. 12B). V průběhu I/R poškození byly sledovány hemodynamické parametry, tepová frekvence a střední arteriální tlak (Tab. 3). ~~a nebyly zjištěny žádné rozdíly v naměřených hodnotách.~~ Střední arteriální tlak byl snížen ve stabilizaci u skupiny 10D, ostatní hemodynamické parametry byly beze změny.

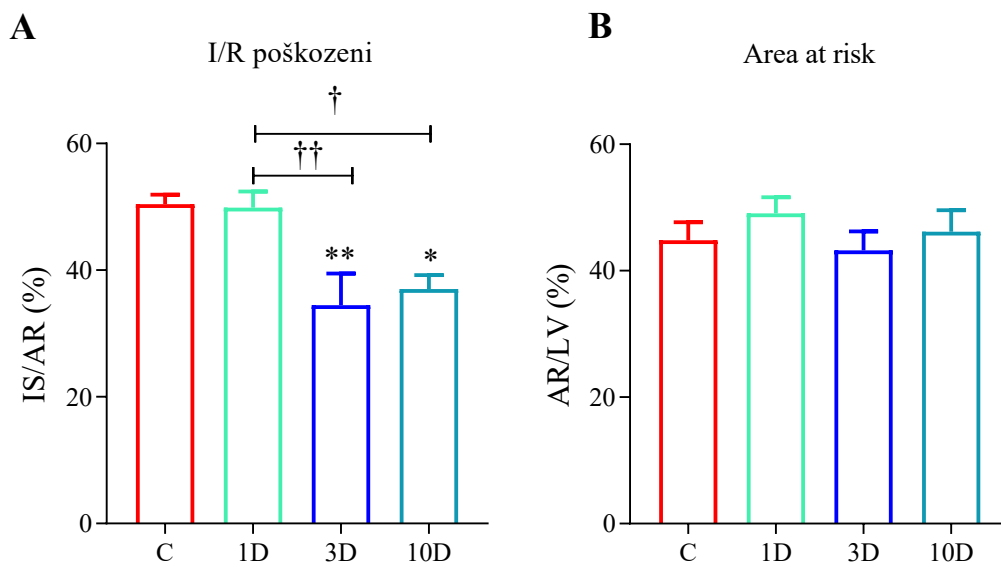


Obrázek 1: Maturatione hnědé tukové tkáně (BAT): Tělesná hmotnost (BW, A); hmotnost hnědé tukové tkáně (W_BAT, B); poměr BAT/BW (C); u krátkodobé chladové expozice: 1den (1D), 3 dny (3D), 10 dní (10D) a u kontroly (C). Hodnoty představují průměrnou hodnotu se směrodatnou odchylkou (* $p < 0,05$); * $p < 0,05$ vs C; † $p < 0,05$ vs 1D; ††† $p < 0,001$ vs 1D; $n = 6$).

Experimentální skupiny	C	1D	3D	10D
<i>Tepová frekvence (úderů/min)</i>				
Stabilizace	390 ± 17	403 ± 20	398 ± 22	382 ± 30
Ischemie	384 ± 33	395 ± 23	382 ± 31	380 ± 33
Reperfúze	375 ± 29	395 ± 30	385 ± 36	382 ± 35
<i>Střední arteriální tlak (mmHg)</i>				
Stabilizace	91 ± 24	83 ± 18	92 ± 16	$70 \pm 18^*$
Ischemie	77 ± 19	73 ± 11	88 ± 18	74 ± 23
Reperfúze	76 ± 16	70 ± 12	84 ± 17	70 ± 17

Tabulka 3: Hemodynamické parametry: tepová frekvence a střední arteriální tlak v krátkodobé chladové expozici: 1 den (1D), 3 dny (3D), 10 dní (10D) a u kontroly (C). Hodnoty představují průměrnou hodnotu se směrodatnou odchylkou (* $p < 0,05$); * $p < 0,05$ vs C; $n = 9$).

U kontrolní skupiny byla naměřena velikost I/R poškození 52 %. Velikost I/R poškození po 1 dni chladové expozice (1D) 49 % se nelišila od kontrolní skupiny, u které velikost infarktu byla 52 %. Překvapivě již po 3 dnech chladové expozice (3D) byla velikost infarktu snížena na 34 % a došlo k signifikantnímu snížení velikosti I/R poškození o 35 % proti kontrole. 10 dni chladové expozice (10D) snížilo velikost I/R poškození na 38 %, což představuje signifikantní snížení o 27 % proti kontrole (Obr. 13A). Velikost oblasti zasažené ischemií se mezi jednotlivými skupinami nelišila, pohybovala se v rozmezí 45-48 % (Obr. 13B).



Obrázek 2: Velikost ischemicko-reperfúzního (I/R) poškození (A) vyjádřeno jako poměr velikosti infarktu (IS) a velikosti zasažené oblasti ischemií (AR); velikost zasažené oblasti levé komory srdeční ischemií (B), vyjádřeno jako poměr AR a velikosti levé komory (LV) u krátkodobé chladové expozice: 1 den (1D), 3 dny (3D), 10 dní (10D) a u kontroly (C). Hodnoty představují průměrnou hodnotu se směrodatnou odchylkou (* $p < 0,05$); * $p < 0,05$ vs C; ** $p < 0,05$ vs C; † $p < 0,01$ vs 1D; †† $p < 0,001$ vs 1D; $n = 9$).