

STRESZCZENIE

Nadciśnienie tętnicze to choroba cywilizacyjna występująca w globalnym i powszechnym wymiarze oraz jedna z najczęstszych przyczyn zgonów na świecie. Nadciśnienie bardzo często pozostaje niezdiagnozowane, ponieważ chorobę tę charakteryzuje utajony i podstępny przebieg. Dlatego tak istotne jest wczesne rozpoznanie, odpowiednia kontrola oraz leczenie farmakologiczne, jak i nefarmakologiczne. Poważne konsekwencje zdrowotne, rozwijające się w przebiegu nadciśnienia, zależą zwykle od powikłań narządowych, będących następstwem negatywnego wpływu podwyższonego ciśnienia krwi na układ sercowo-naczyniowy. Dotyczą one przede wszystkim serca, nerek i mózgu, ale mogą również obejmować nadnercza. Nadciśnieniu tętniczemu towarzyszy nieprawidłowe wydzielanie zarówno mineralokortykosteroidów jak i katecholamin, które wpływają na homeostazę układu krążenia. Co więcej, zwężenie naczyń skutkuje niedostatecznym dopływem krwi do narządów dokrewnych, co w istotny sposób wpływa na aktywność komórek endokrynowych, natomiast towarzyszący nadciśnieniu stres oksydacyjny może prowadzić do aktywacji szlaków sygnałowych regulujących transkrypcję genów i produkcję mediatorów zapalnych.

CacyBP/SIP jest wielofunkcyjnym białkiem, które bierze udział w wielu ważnych procesach komórkowych. Ostatnie dane literaturowe sugerują, że rola tego białka w różnych szlakach sygnałowych może być związana z defosforylacją kinaz MAPK. Kinazy MAPK regulują aktywność białek, enzymów oraz czynników transkrypcyjnych. Zakres biologicznego działania tych kinaz jest bardzo szeroki, co wskazuje na ich udział w patogenezie wielu chorób. Mając na uwadze fakt, że w nadciśnieniu tętnicznym dochodzi do szeregu zdarzeń molekularnych, strategie terapeutyczne opierające się na ingerencji w szlaki sygnalizacyjne podlegające kinazom p-ERK1/2 oraz p-p38 mogą być istotnym celem w terapii tej choroby.

W celu poszerzenia wiedzy o patogenezie zaburzeń nadnerczy w nadciśnieniu pierwotnym i wtórnym oraz ze względu na brak doniesień na temat nowej, fosfatazowej funkcji

białka CacyBP/SIP w chorobach sercowo-naczyniowych postanowiono przeprowadzić badania, które miały na celu analizę immunohistochemiczną, morfometryczną i ocenę ekspresji genów CacyBP/SIP oraz ERK1/2 i p38 w nadnerczach szczurów z nadciśnieniem o różnej etiologii.

Badania przeprowadzono na nadnerczach pobranych od 24 szczurów: pięciu szczurów normotensyjnych (WKY), siedmiu szczurów z genetycznie uwarunkowanym nadciśnieniem układowym (SHR), pięciu szczurów Wistar poddanych uninefektomii (UNX) i siedmiu szczurów z doświadczalnie wywołanym nadciśnieniem wtórnym (DOCA-salt). Po utrwaleniu w zbuforowanej formalinie materiał przeprowadzono do bloczków parafinowych w rutynowy sposób. W celu immunohistochemicznej identyfikacji białka CacyBP/SIP, p-ERK1/2 i p-p38 przeprowadzono reakcje z wykorzystaniem przeciwciał skierowanych przeciwko badanym parametrom. Wyniki reakcji immunohistochemicznych oceniano w mikroskopie świetlnym sprzężonym z komputerem i wyposażonym w program morfometryczny NIS-Elements Advanced Research firmy Nikon. Aby porównać profil ekspresji genów *Cacybp*, *Mapk3*, *Mapk1* i *Mapk14* w nadnerczach szczurów kontrolnych i nadciśnieniowych wykorzystano metodę Real time PCR. Uzyskane w reakcji PCR wyniki zostały znormalizowane do genu referencyjnego *Gapdh*, natomiast ekspresję genów wyliczono za pomocą metody $\Delta\Delta Ct$.

Dane dotyczące intensywności reakcji immunohistochemicznej poddano analizie statystycznej z wykorzystaniem pakietu statystycznego STATISTICA 13.3. PL. We wszystkich uzyskanych wynikach wyliczono średnią arytmetyczną i błąd standardowy oraz wykonano analizę porównawczą za pomocą jednoczynnikowego testu ANOVA. W celu przeprowadzenia analizy post-hoc użyto testu Najmniejszych Istotnych Różnic Fishera. Za poziom istotności statystycznej przyjęto $p < 0,05$.

Analiza densytometryczna wykazała znamienne spadki intensywności reakcji wykazującej białko CacyBP/SIP w nadnerczach szczurów nadciśnieniowych w porównaniu do

grupy kontrolnej. Porównując parametry morfometryczne komórek zawierających p-ERK1/2 wykazano, że w warstwie kłębuszkowatej kory nadnerczy szczurów SHR oraz w rdzeniu zwierząt DOCA-salt nastąpił spadek intensywności reakcji immunohistochemicznej. W pozostałych warstwach kory nadnerczy szczurów z nadciśnieniem oraz rdzeniu SHR stwierdzono znamienne wzrost immunoreaktywności tej kinazy. Natomiast w przypadku p-p38, wykazano istotny statystycznie wzrost immunoreaktywności tego parametru u szczurów z nadciśnieniem w odniesieniu do szczurów normotensyjnych.

Badania PCR czasu rzeczywistego wykazały istotny statystycznie spadek ekspresji genu kodującego CacyBP/SIP w nadnerczach szczurów z nadciśnieniem pierwotnym i wtórnym. Natomiast w przypadku kinaz ERK1/2 i p38 wykazano znamienne statystycznie wzrost ekspresji badanych genów w nadnerczach szczurów nadciśnieniowych w porównaniu do grup kontrolnych.

Wyniki przeprowadzonych badań wykazały zmiany w immunoreaktywności i ekspresji genów kodujących CacyBP/SIP, p-ERK1/2 i p-p38 w nadnerczach szczurów z nadciśnieniem o różnej etiologii. Odwrotna korelacja pomiędzy ekspresją CacyBP/SIP a poziomem p-ERK1/2 i p-p38 sugeruje, że w nadnerczach szczurów z nadciśnieniem pierwotnym i wtórnym CacyBP/SIP przyczynia się do defosforylacji kinaz MAPK i regulacji ich funkcji w różnych procesach komórkowych, co może mieć znaczenie w patologii nadciśnienia tętniczego.