

Ateroskleróza

Jana Novotná

Základní kroky v patogenezi aterosklerózy

Ateroskleróza - dříve považována za degenerativní chorobu s kumulací cholesterolu v intimě cév, s progresivními rysy, jako je zmnožením vaziva v místě plátů.

Dnes je považována za zvláštní typ zánětu, tedy arteritidy, nejasné etiologie.

V jejím průběhu se uplatňují faktory známé při nespecifickém zánětu.

Základní kroky v patogenezi aterosklerózy

Choroba kardiovaskulárního systému postihuje cévní stěny.

Vede ke zúžení artérií nebo kompletní bloádě.

Poškození endotelu, způsobené neznámým etiologickými faktorem (infekční agens, zvláště Chlamydia pneumoniae, herpetické viry jako cytomegalovirus, homocystein, kouření cigaret aj.).

Dochází k remodelaci cévní stěny.

Základní kroky v patogenezi aterosklerózy

Intenzivní vzájemná komunikace mezi endoteliálními buňkami (EC), hladkými svalovými buňkami (VSMC), plasmatickými zánětlivými buňkami, lymphocyty (včetně souboru chemokinů, cytokinů, růstových faktorů).

Přitahování buněk do místa aterosklerotické léze.

Migrace, proliferace, apoptóza buněk, nadbytek produkce extracelulární matrix.

Cévní stěna

- Nepoškozený arteriální endotel odpuzuje buňky a inhibuje srážení krve.
- Lumen zdravé arteriální stěny je lemován konfluentní vrstvou endoteliálních buněk.

Normální cévní stěna

Tři koncentrické vrstvy

a) *Tunica intima*

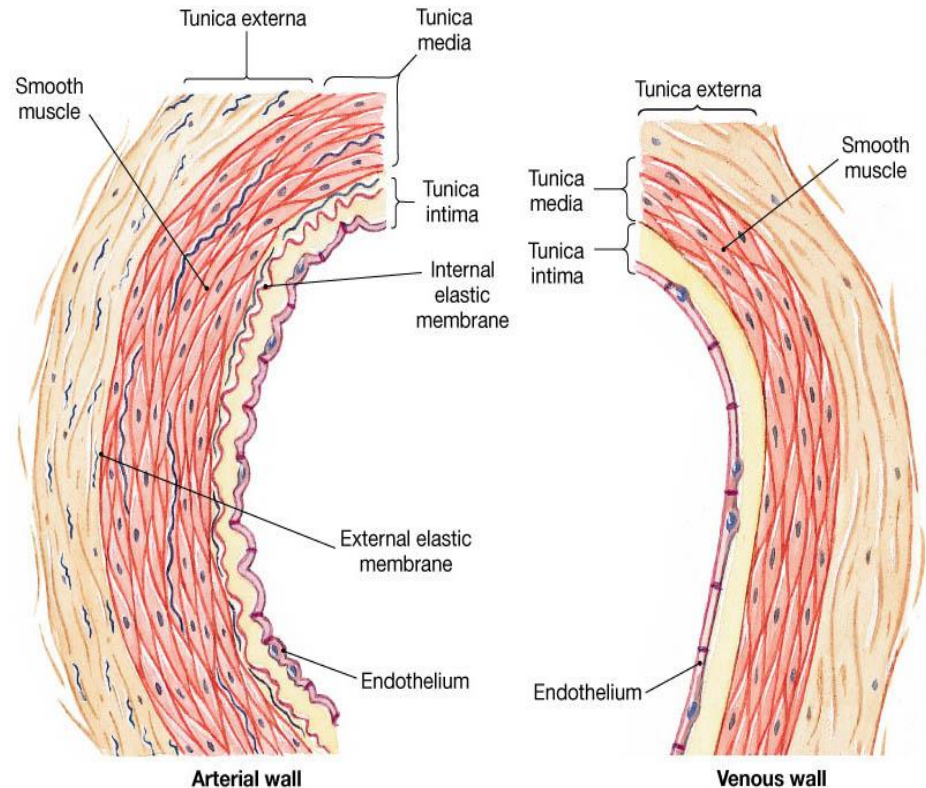
- (1) endotel
- (2) subendoteliální vrstva layer

b) *Tunica media*

- (1) hladký sval
- (2) elastin

c) *Tunica adventitia (externa)*

- (1) pojivová tkáň TM (Tunica Media)
- (2) arterioly ve velkých cévách



Endotel

Lumen zdravé cévní stěny pokryt jedolitou vrstvou endoteliálních buněk.

Cévní endotel odpuzuje buňky a zabraňuje tvorbě krevní sraženiny.

Kontroluje důležité funkce:

1. schopnost cévy se roztáhnout (vasodilatce)
2. schopnost cévy se stáhnout (vasokonstrikce).

Reguluje tok krve ve tkáních a orgánech.

Inhibuje zánět, trombózu, proliferaci hladkých svalových buněk.

Uvolňuje řadu látek, které kontrolují vasomotorický tonus:

prostacykliny

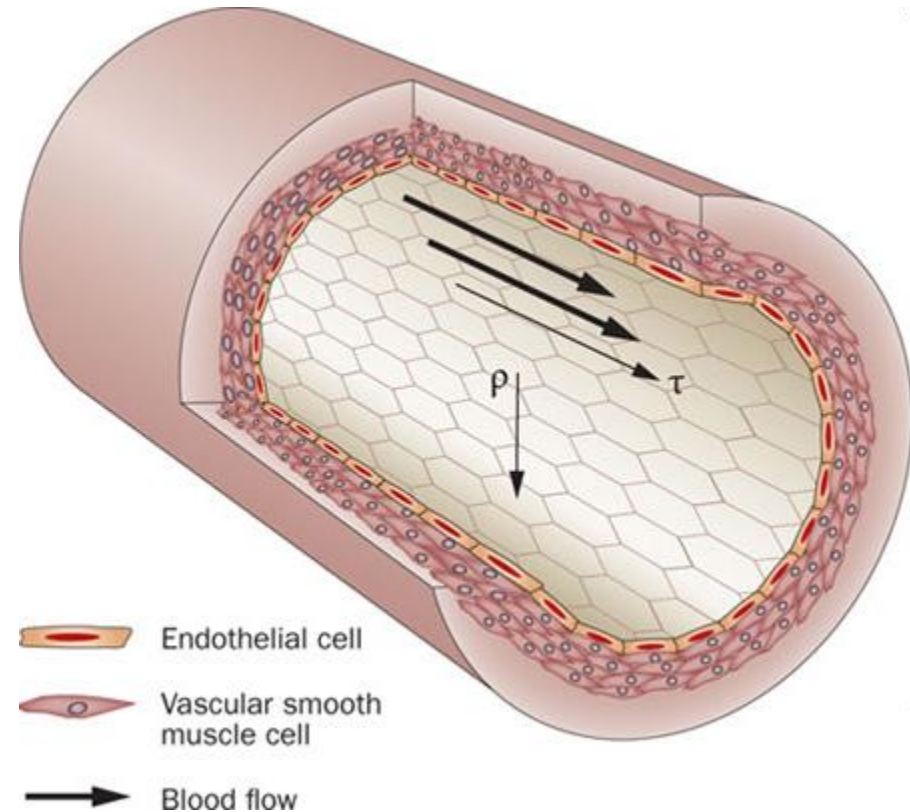
hyperpolarizující faktor

endotelin

NO

Endotel

- **Střížné napětí** (shear stress, τ) je tečná síla tekoucí krve napříč cévní stěnou.
- V prekapilární oblasti se tak vodivost cév zvyšuje v závislosti na metabolických požadavcích.



Endotel

Vysoké střížné napětí v laminárním proudění -
endoteliální buňky jsou v klidu a jsou zarovnány ve
směru toku krve, vylučují látky podporující vasodilataci a
antikoagulační látky.

Nízké střížné napětí nebo změna směru proudění krve
(tubulární proudění) – podporuje proliferaci, apoptózu a
změnu tvaru endoteliálních buněk, buňky vylučují látky
podporující vasokonstrikci, koagulaci a agregaci
destiček.

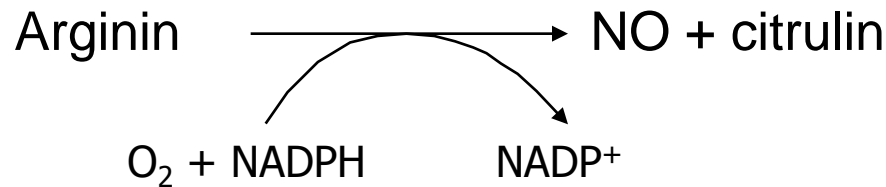
Střížné napětí je atheroprotektivní.

Endotel

- V případě intaktního endothelu je podnětem pro vasodilataci:
 - mechanická stimulace zvýšeným průtokem krve
 - katecholaminy, bradykinin, serotonin uvolněný destičkami stimulují specifické receptory.
- V případě endoteliální disfunkce:
 - přímý vasokonstrikční podnět na VSMC převyšuje vasodilatační
 - schopnost endotelu a vede k paradoxní vasokonstrikci.
 - (S endoteliální disfunkcí souvisí hypercholesterolemie a další kardiovaskulární rizikové faktory).

Oxid dusnatý (NO)

- Faktor, který řídí vasodilataci: endothelium-derived relaxing factor (EDRF)



- Aktivita endoteliální NO syntasy (eNOS) je řízena intracelulárním Ca^{2+} .
- eNOS – endoteliální konstitutivní enzym (neustále exprimován) na rozdíl od indukibilní iNOS z VSMC.
- NO působí vasodilataci přes stimulaci guanylátcyklasy a produkci cGMP.

Oxid dusnatý (NO)

- NO syntasa vyžaduje řadu kofaktorů:
 - tetrahydrobiopterin (BH₄),
 - flavinadeninmononukleotid (FMN),
 - flavinadenindinukleotid (FAD),
 - redukované thioly,
 - feroproteoporfyrin IX,
 - kalmodulin
- Jediný enzym využívající FAD a FMN

Role oxidačního stresu

Zadržované LDL v intimě podléhají oxidaci, proteinová složka glykosylaci.

V lipidové frakci vznikají hydroperoxidy lipidů, lysofosfolipidy, karbonylové sloučeniny.

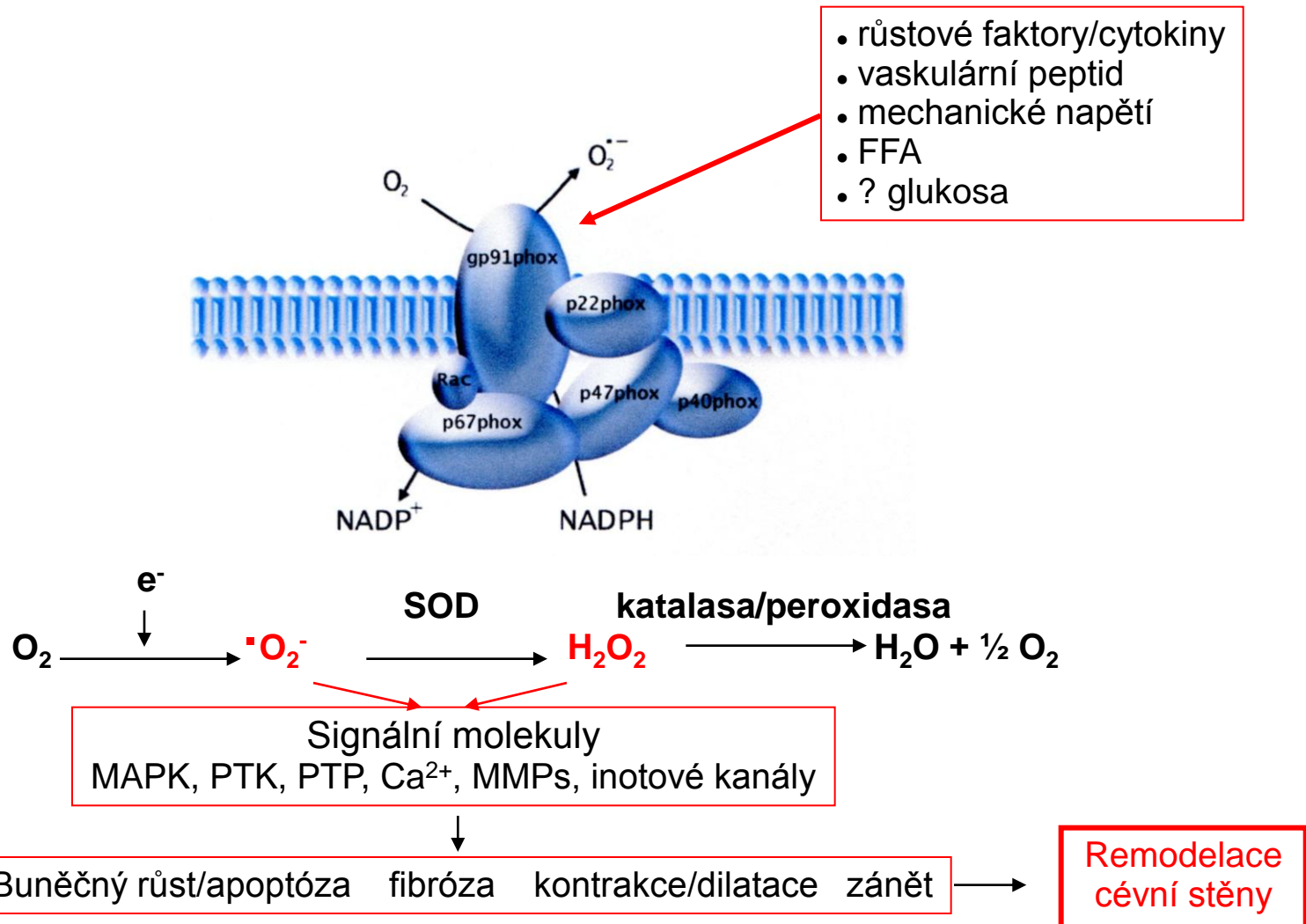
Volné kyslíkové radikály (ROS) velmi rychle inaktivují NO.

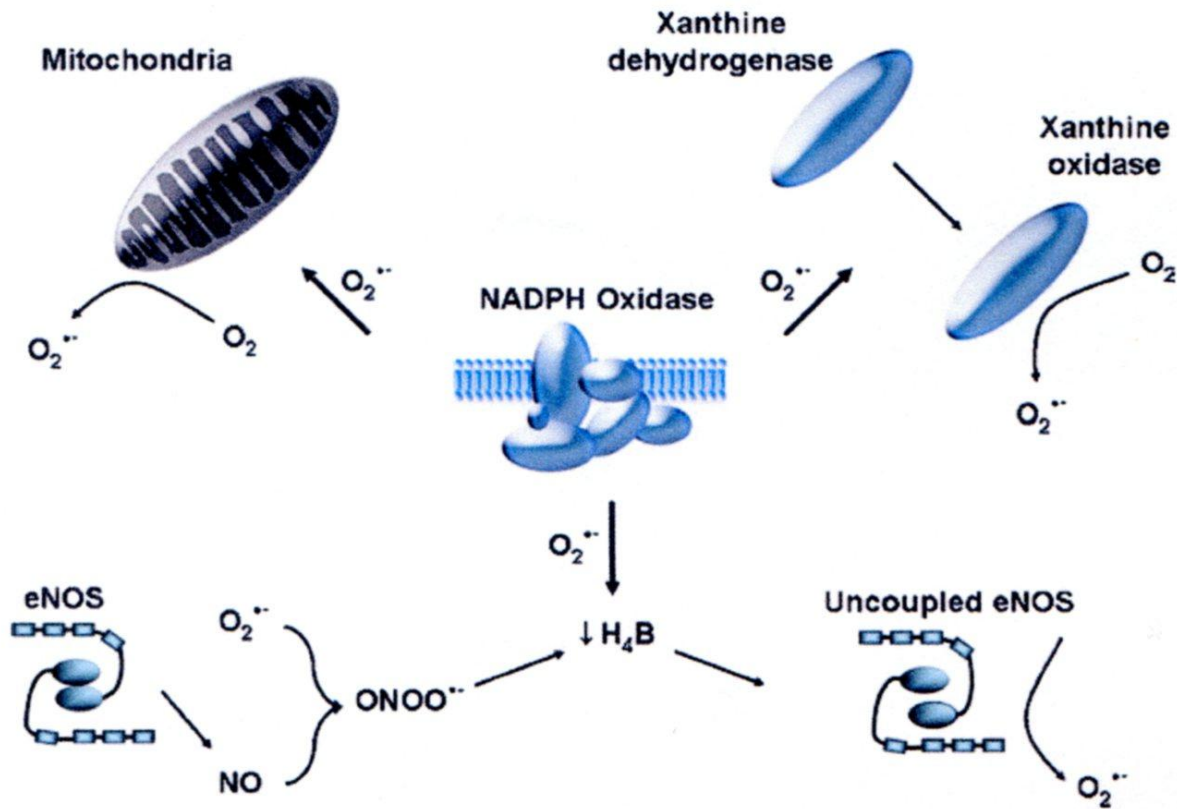
Superoxid ($O_2^{\cdot-}$) produkován různými oxidasami (NADPH oxidasa, xanthinoxidasa).

$NO + O_2^{\cdot-} \Rightarrow$ peroxynitrit ($ONOO^-$).

NO ztrácí vazoprotektivní funkci.

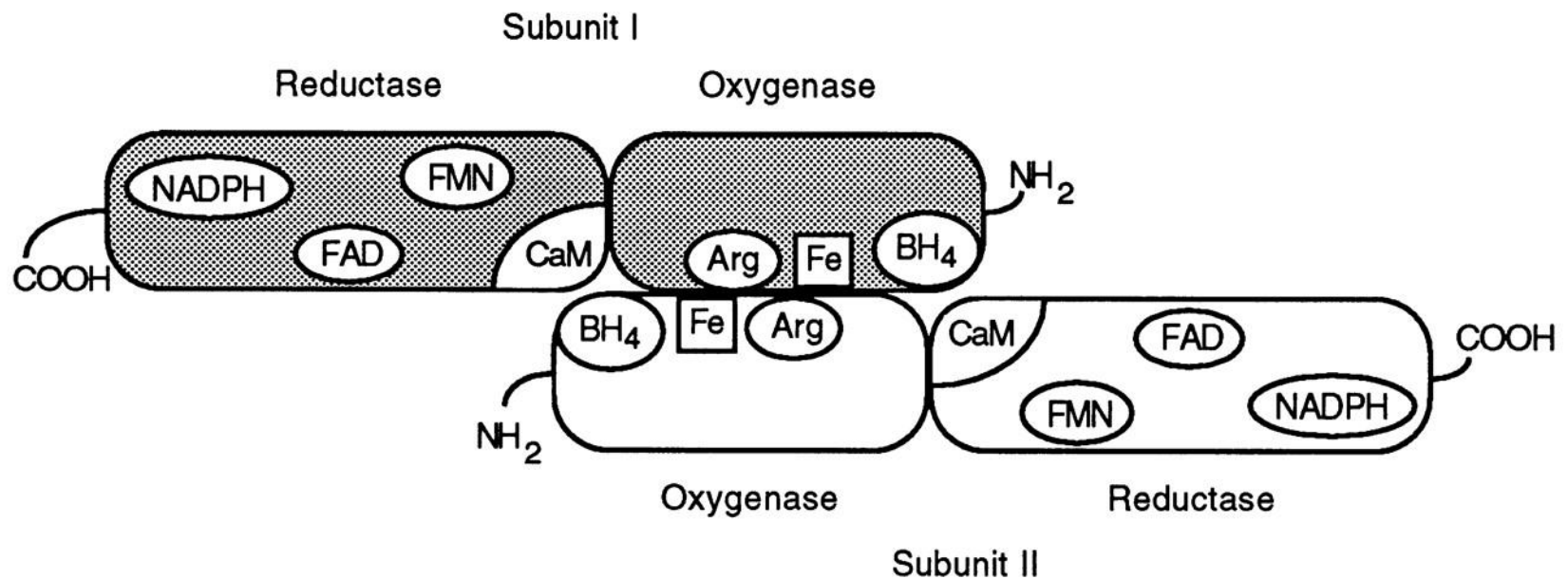
NADPH oxidasa





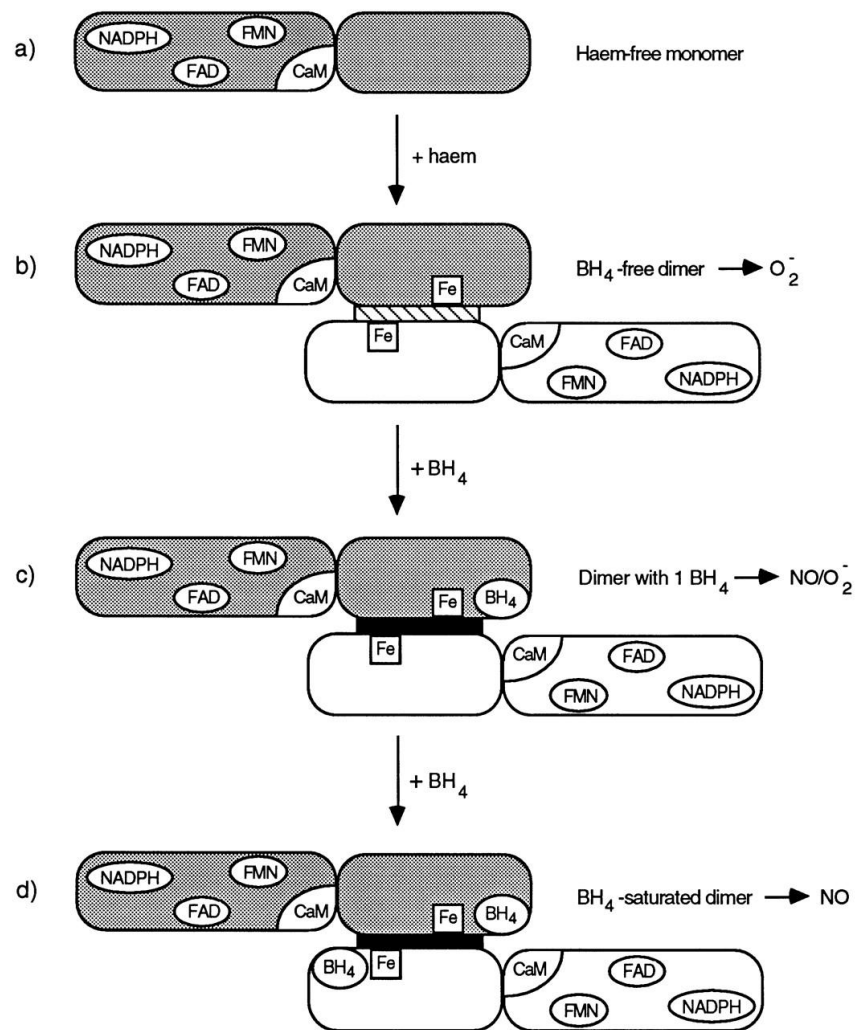
NADPH oxidasa ovlivňuje produkci superoxidu další enzymatické zdroje superoxidu:
 xanthindehydrogenasa - přeměna oxidací na superoxid produkující
 xanthinoxidasu, ↑superoxid
 mitochondrie citlivé na oxidační poškození → další produkce ROS
 odpřažení NOS → produkce superoxidu místo NO

Schéma struktury domén dimerů NO syntasy s kofaktory a vazebnými místy pro substrát.



Andrew P J , and Mayer B Cardiovasc Res 1999;43:521-531

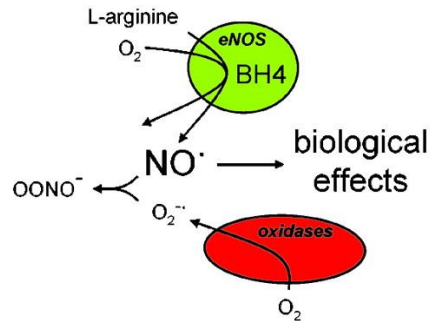
Stages of NOS dimer assembly.



Andrew P J , and Mayer B Cardioasc Res 1999;43:521-531

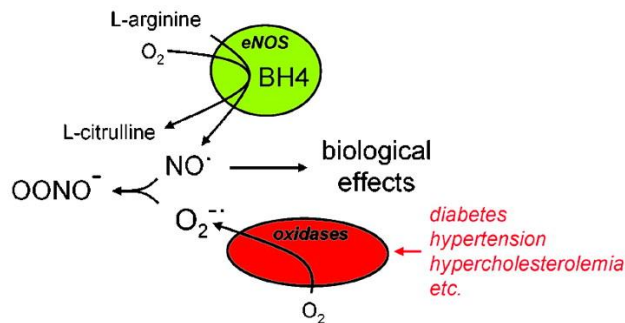
Role BH4 při regulaci aktivity eNOS u vaskulárních chorob.

A



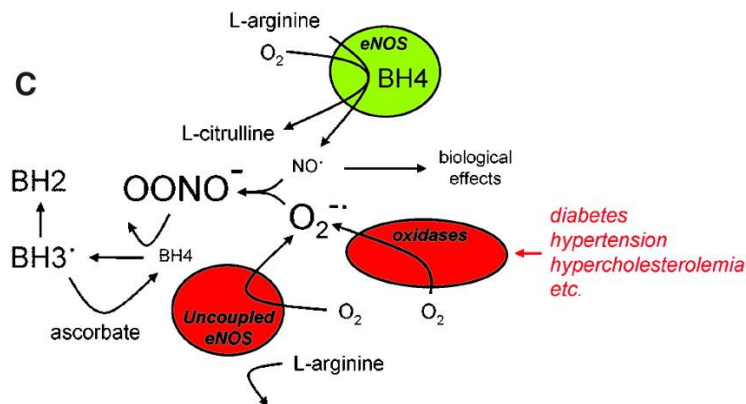
A. Zdravý cévní endotel - BH4 je dostupný. eNOS produkuje dostatečné množství NO pro regulaci antiatherogenních biologických účinků. Superoxid produkovaný různými oxidasami působí hlavně signalizačně. Peroxynitrit vzniklá minimálně.

B



B. U cévních onemocnění (diabetes, hypertenze, hypercholesterolemie) - produkce superoxidu různými oxidasami významně stoupá. Produkce NO může být na začátku nezměněná, ale jeho biologická dostupnost je snížena – zvýšená tvorba peroxinitritu

C



C. Peroxynitrit a další ROS oxidují BH4 přes BH3 radikál na BH2 a biopterin, snižuje se biologická dostupnost BH4, což vede k odpřažení (uncoupling) eNOS. eNOS nyní generuje superoxid místo NO, následuje zvýšení oxidačního stresu a snížení produkce NO. Askorbát přímo redukuje BH3 radikál, brání oxidativní degradaci BH4.

Rozvoj aterosklerózy

Klíčový faktor - **poškození** endotelu hromaděním lipoproteinů (LDL), hypertenze, diabetes, složky z cigaretového kouře.

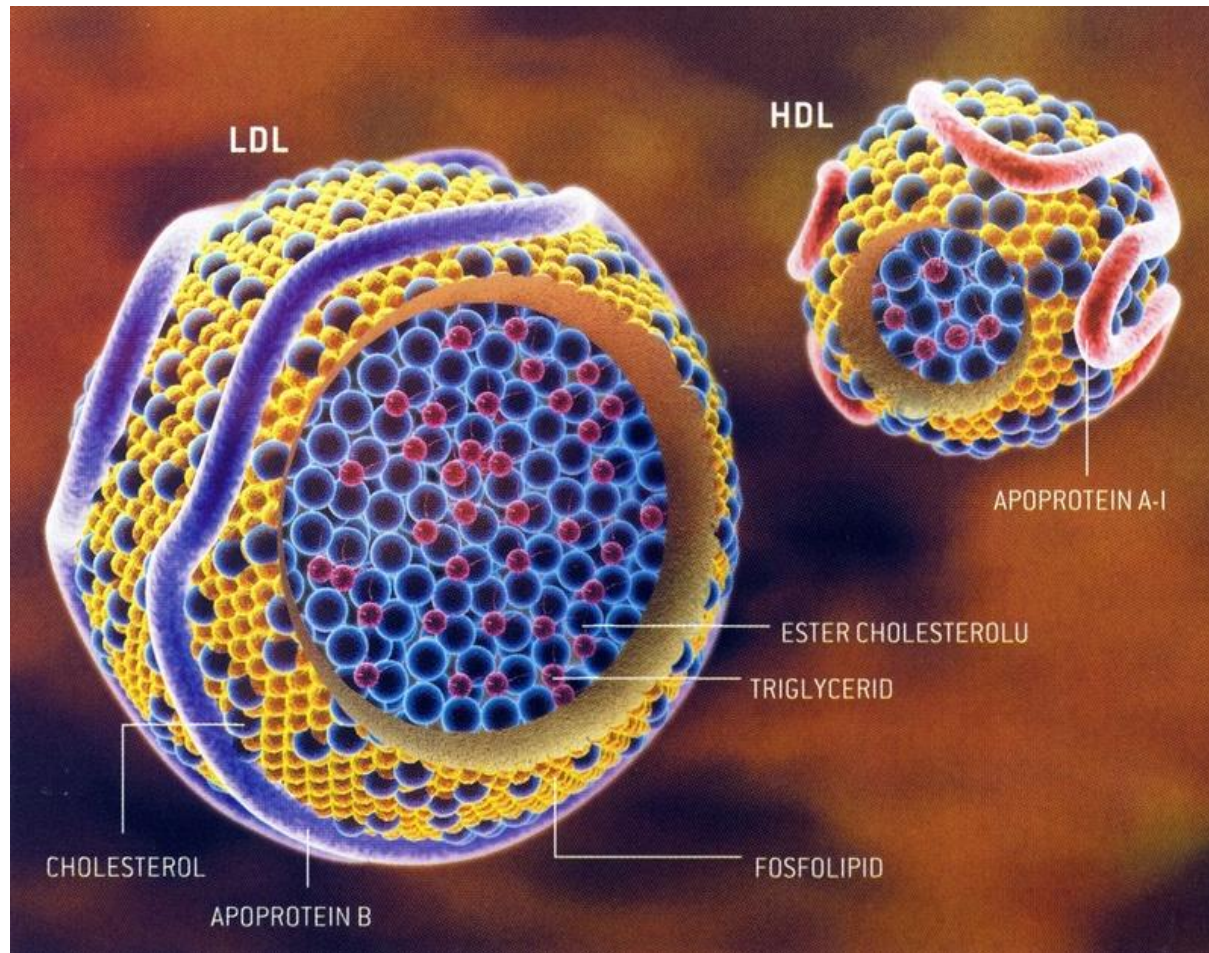
Endotel se stává pro LDL **propustnější**.

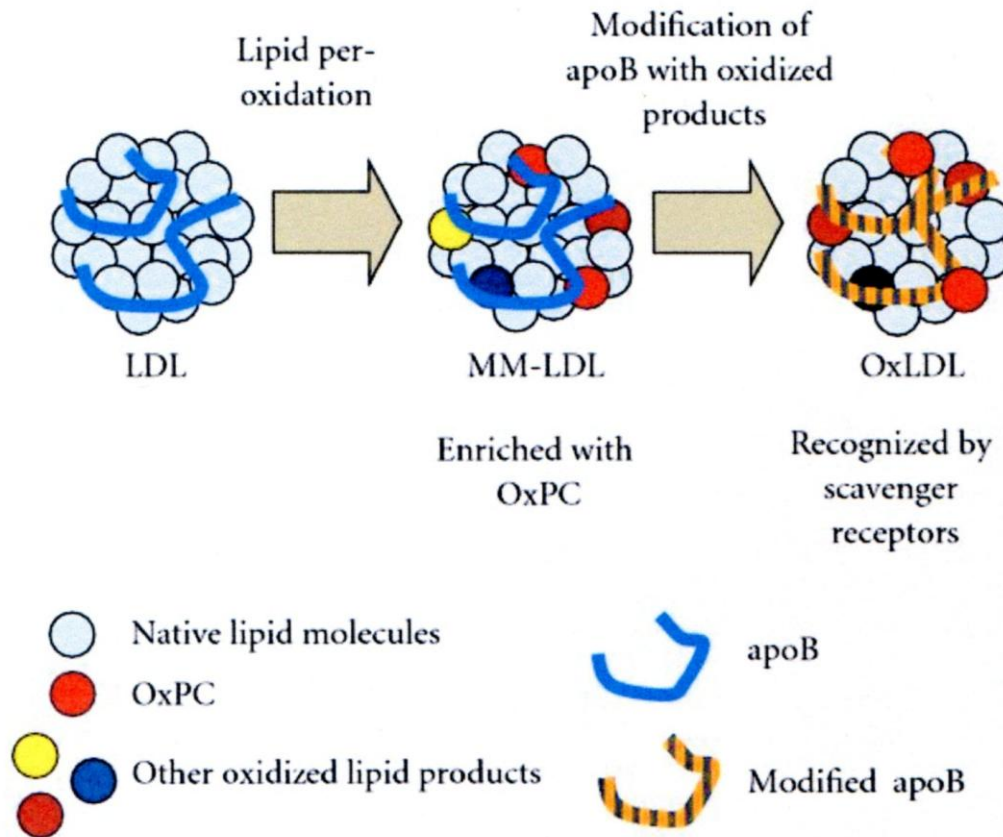
LDL pronikají pod endotel (do intimy).

Endotel ztrácí schopnost odpuzovat buňky.

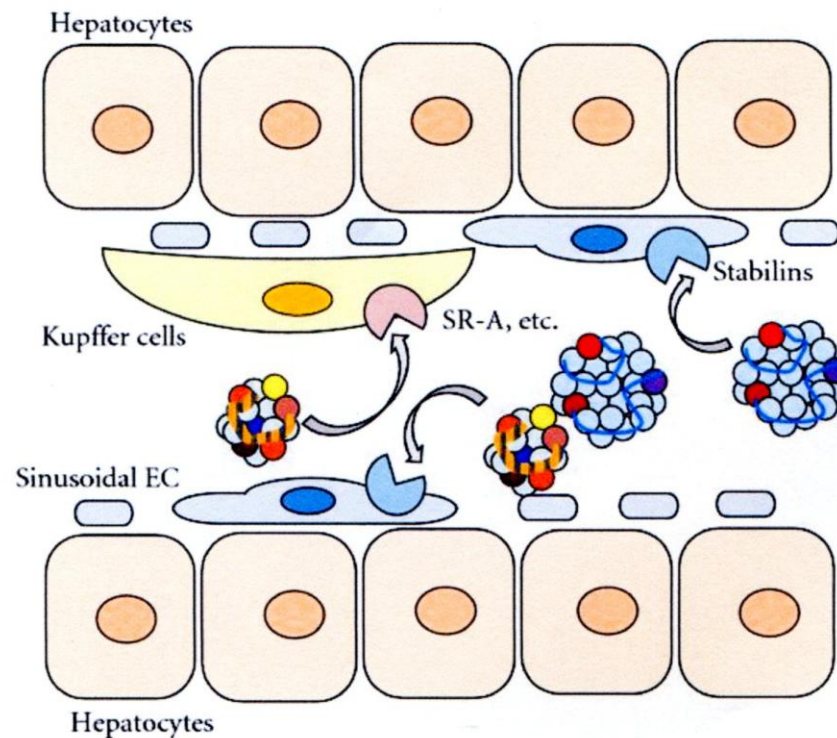
Do cévní stěny pronikají zánětlivé buňky.

Schéma částic LDL a HDL, které se uplatňují v patogeneze aterosklerózy





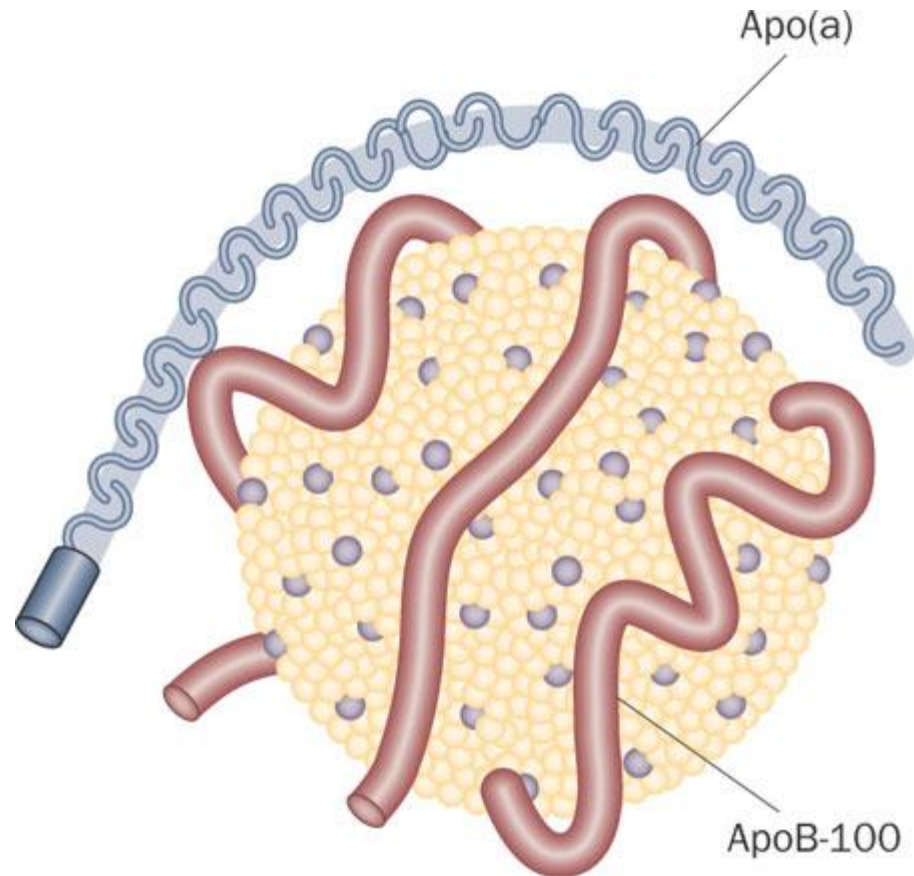
Modifikace lipidů oxidačními produkty → radikálová řetězová reakce a produkce různých typů oxidačních produktů lipidů (MM-LDL = minimally modified LDL, oxPC = oxidovaný fosfatidylcholin) → reakce s apoB proteinem a vznik příčných vazeb. Radikály přímo napadají apoB → oxidační změny postranních řetězců aminokyselin a rozštěpení peptidové vazby. MM-LDL nemají tak značně modifikovaný protein, spíše než na scavenger receptor se váží na LDL receptor, oxLDL ztrácí afinitu k LDL receptoru a stávají se ligandem pro scavenger receptor makrofágů.



Stabilin (-1 a -2) – endoteliální scavenger receptor (nově zjištěný), je pravděpodobně zapojen do vychytávání oxLDL v játrech a v cirkulaci. Silně oxidované LDL vychytávají Kupferovy buňky, sinusové buňky vychytávají jak minimálně, tak silně oxidované LDL.

Lipoprotein(a)

- Lp(a) - lipoprotein podobný LDL
- Na apolipoprotein B-100 disulfidickým můstkem vázán apolipoprotein(a). Apo(a) protein je podobný plasminogenu - soupeří s plasminogenem o vazebná místa, sníží se fibrinolýza a vzniká krevní sraženina.
- Předpokládá se, že Lp(a) urychluje proces aterosklerózy tím, že váže LDL, vápník a dalších komponenty do aterosklerotického plátu v cévní stěně.
- Toto duální působení Lp(a) silně koreluje s rizikem vzniku kardiovaskulárního onemocnění.



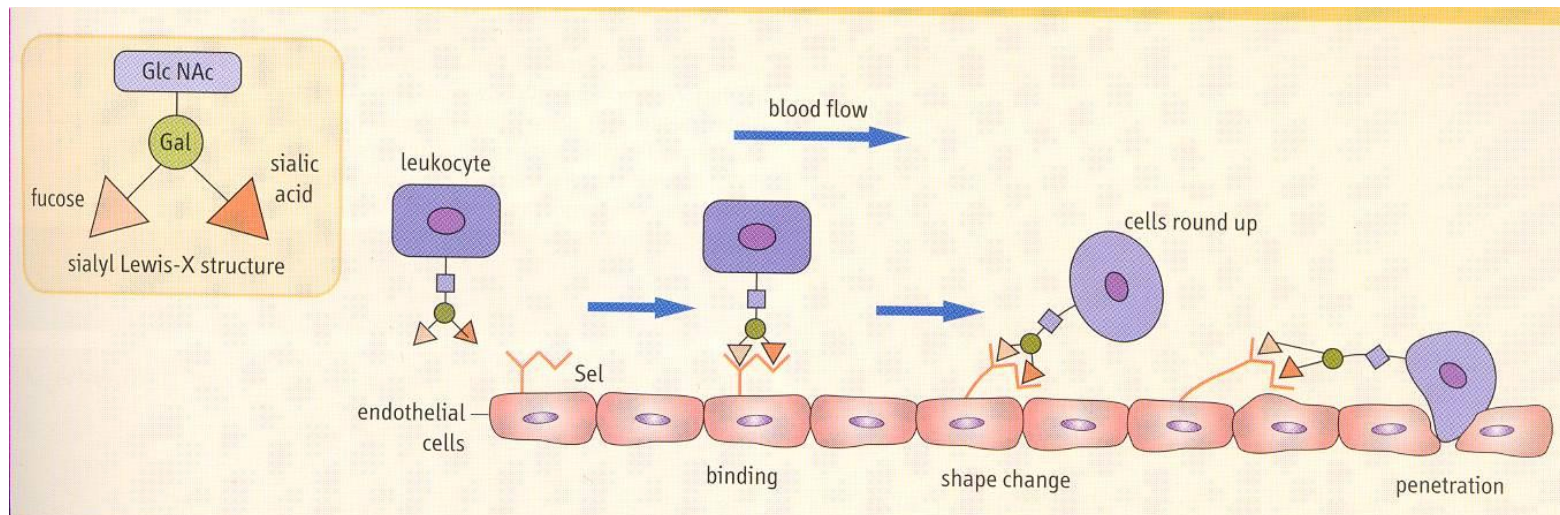
Rozvoj aterosklerózy

Disfunkční endotel produkuje adhesivní molekuly – **selektiny**, zprostředkující buněčné interakce („rolling“ interaction).

Klíčová molekula – **vaskulární intercelulární adhesivní molekula-1 (VCAM-1)** podporuje adhezi monocytů (prekurzorů makrofágů).

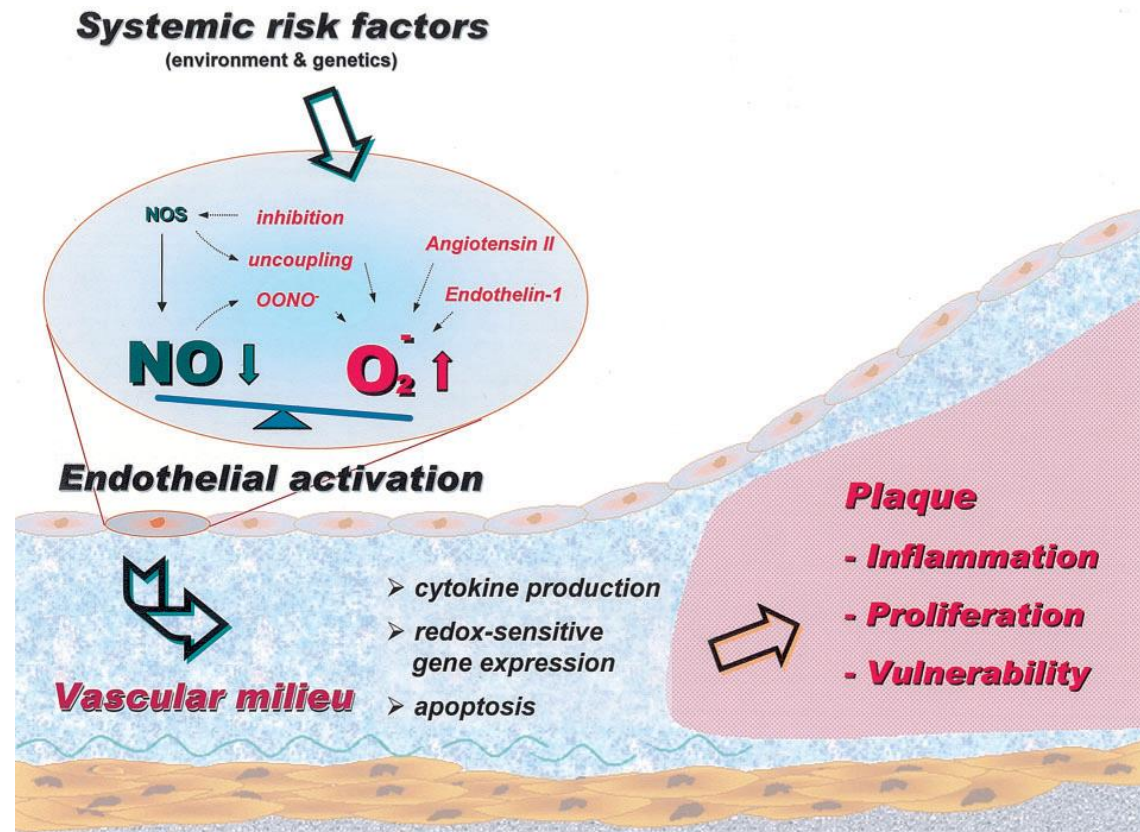
Adherující buňky jsou stimulovány **monocytární chemoatraktivní protein-1 (MCP-1)**.

Monocyty procházejí endotelem, usazují se v intimě.



Inaktivace NO oxidačním stresem

- **Angiotensin II** je klíčový mediátor oxidačního stresu v cévní stěně - stimuluje makrofágy k produkci $O_2^{\cdot-}$ (xanthin oxidasou a NADH/NADPH oxidasou).
- V časně fázi se ROS uvolňují z endotelu.
- V pozdější fázi aterogeneze produkují ROS makrofágy, lokalizované ve ztlustělé cévní stěně.



Spouštěče zánětu při ateroskleróze

Snížená biologická aktivita NO, zvyšující se oxidační stres, produkce peroxinitritu (NO a superoxid), vede k nitraci tyrosinu v proteinech cévní stěny.

Nitrotyrosin a oxidované LDL aktivují transkripční faktor **NF- κ B** (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells).

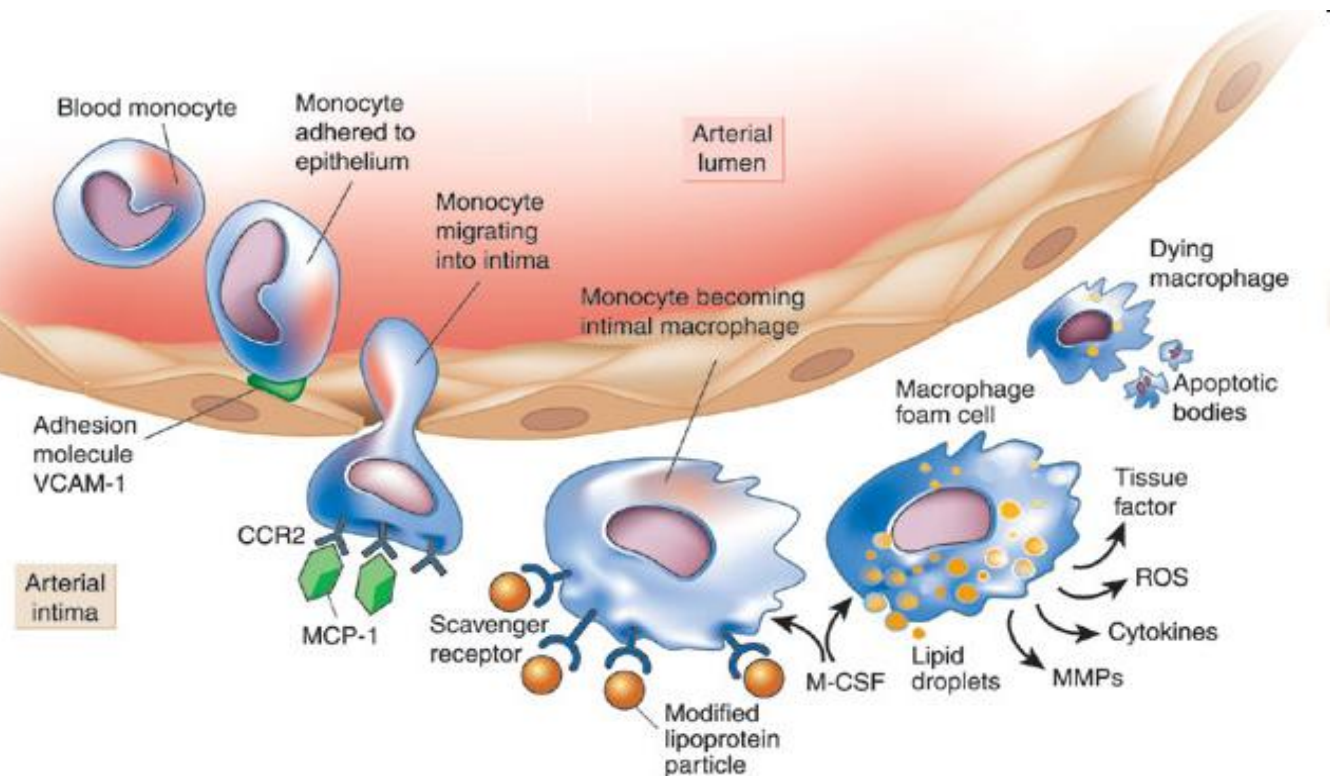
NF- κ B zvyšuje proliferaci VSMC.

snížená biologická aktivita NO a zvýšený oxidační stres stimulují produkci cytokinů (interleukinů, $\text{TNF}\alpha$, MCP-1, interferonů) a přitahují monocyty.

Zánět při ateroskleróze (mononukleární buňky)

Endotheliální buňky podstupují zánětlivou aktivaci, produkují různé adhesivní molekuly (VCAM-1). Monocyty penetrují do tunica intima. Jejich receptor CCR_2 interaguje s MCP-1

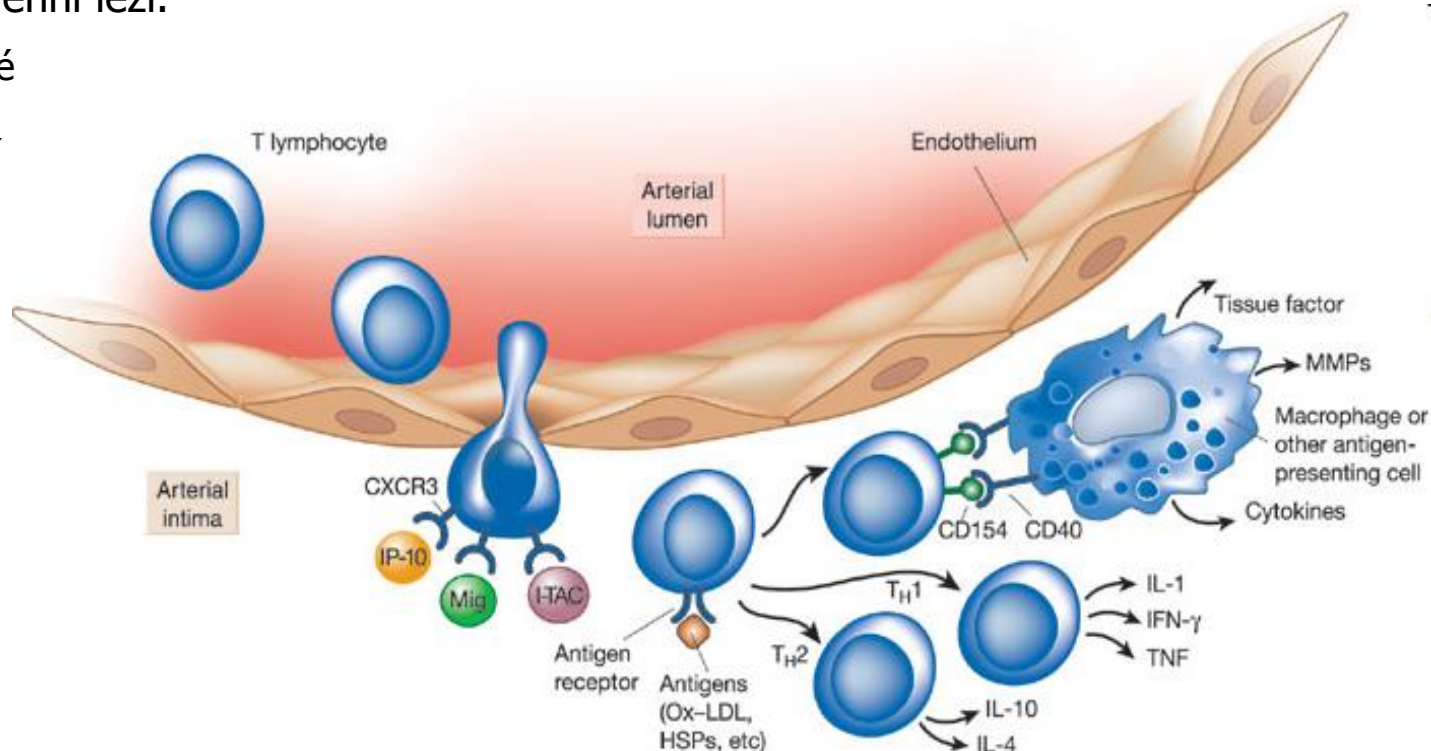
- Rezidentní monocyty se mění na tkáňové makrofágy.
- Makrofágy exprimují receptory (scavenger receptors) pro oxidované LDL, internalizují částice lipoproteinů.
- Mění na pěnové buňky (lipidové kapénky se hromadí v cytoplasmě). Pěnové buňky vylučují pro-zánětlivé cytokiny.
- Tento proces umocňují místní zánět a produkce ROS.



Zánět při ateroskleróze (T-lymfocyty)

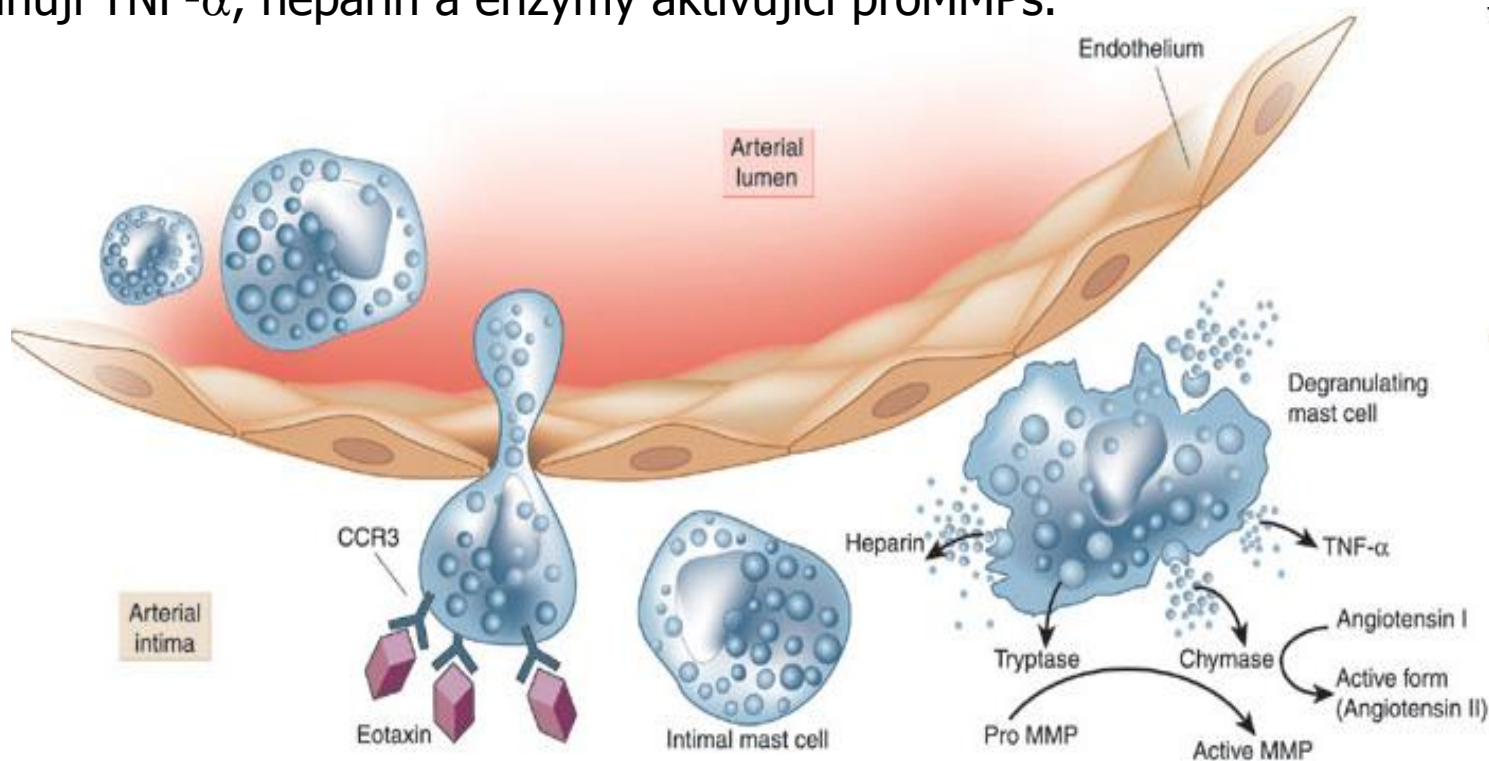
Vstup T-lymfocytů do intimy usnadňují VCAM-1 a trio chemokinů - IP-10 (inducible protein-1), Mig (monokine induced by interferon- γ) a I-TAC (interferon-inducible T-cells α -chemoattractant). Trio chemokinů se váže na CXCR3 chemokinový receptor exprimovaný na T-buňkách v aterogenní lézi.

- T-buňky jsou aktivované antigeny (Ox-LDL, heat-shock proteiny), produkují cytokiny.
- Cytokiny ovlivňují chování dalších buněk v atheromu.
- CD154 (protein na aktivovaných T-buňkách) se váže na CD40 ligand expresimovaný na makrofágách.
- To indukuje expresi dalších cytokinů, MMPs, tkáňových faktorů.

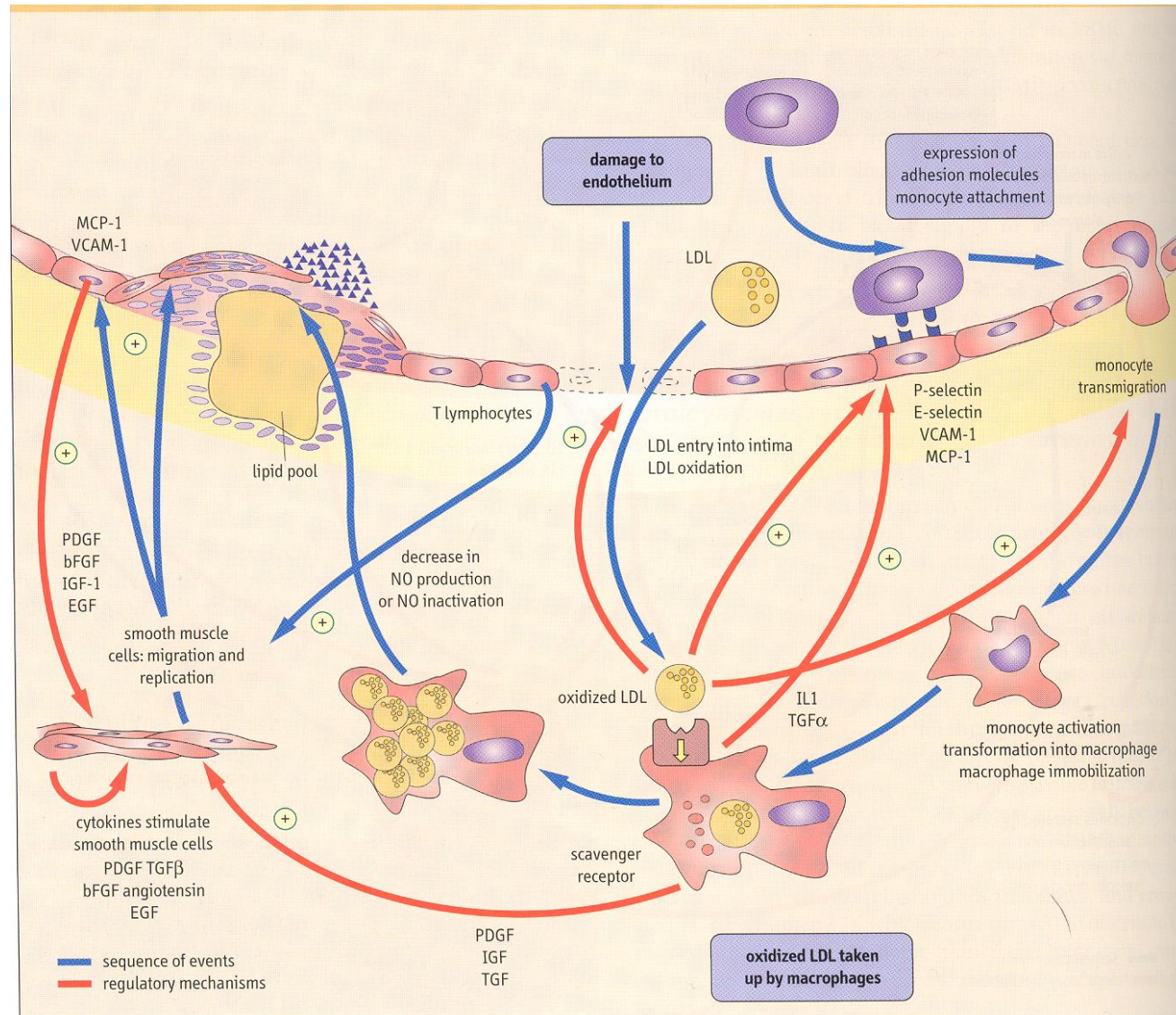


Zánět při ateroskleróze (žírné buňky)

Žírné buňky infiltrují intimu. Infiltraci zprostředkovává chemoatraktant eotaxin. Svým receptorem CCR₃ se žírné buňky v intimě vážou na eotaxin. Usídí se a degranulují, uvolňují TNF- α , heparin a enzymy aktivující proMMPs.



Proces aterogeneze - souhrn



Proces aterogeneze

Klíčový proces – vstup lipidů do cévní stěny.

Hypercholesterolemie (LDL) – faktor pro indukci VCAM-1 a MCP-1.

V patogenezi aterosklerózy se uplatňují LDL a VLDL prostupují cévní stěnou velmi snadno.

LDL – v plasmě jsou proti oxidaci chráněné vit. E, ubiquinonem, plasmatickými antioxidanty (β -karoten, vit. C).

Mimo plasmu se fosfolipidy LDL a mastné kyseliny snadno oxidují.

Proces aterogeneze

Aktivované makrofágy produkují enzymy – lipoxxygenasy, myeloperoxidasu, NADPH oxidasu.

Oxidované LDL jsou cytotoxické pro endoteliální buňky, mitogenní pro makrofágy.

Oxidovaný LDL apolipoprotein apoB100 se váže na scavenger receptor.

Scavenger receptory nejsou regulovány množstvím intracelulárního cholesterolu.

Makrofágy pohlcují oxidované LDL, uvnitř jsou lipidy přesyceny.

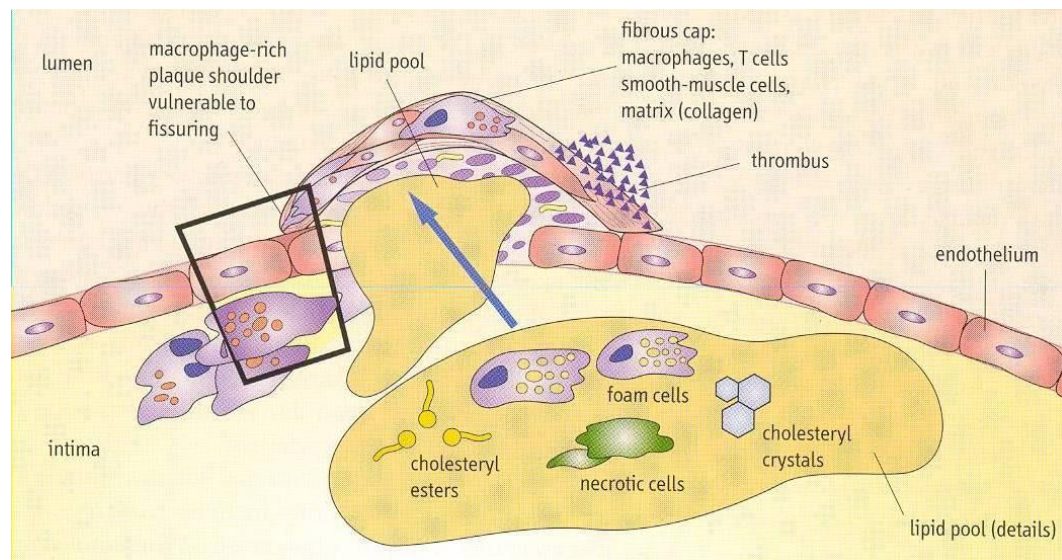
Vznik aterogenního plátu

Lipidové centrum a fibrózní čepička jsou hlavní součásti zralého aterosklerotického plátu.

Fibrózní kryt plátu tvoří kolagenní vlákna produkovaná VSMC. Stabilita aterosklerotického plátu závisí na celistvosti fibrózního krytu plátu.

➤ Mediátory zánětlivého procesu a enzymy produkované makrofágy (kolagenázy, želatinázy, stromelisyn) naruší kryt plátu, kryt se roztrhne a krev se setká s lipidovým jádrem plátu.

➤ Velké množství srážecích faktorů uvnitř plátu spolu s plasmatickými faktory nastartují vznik trombu.



Proces aterogeneze

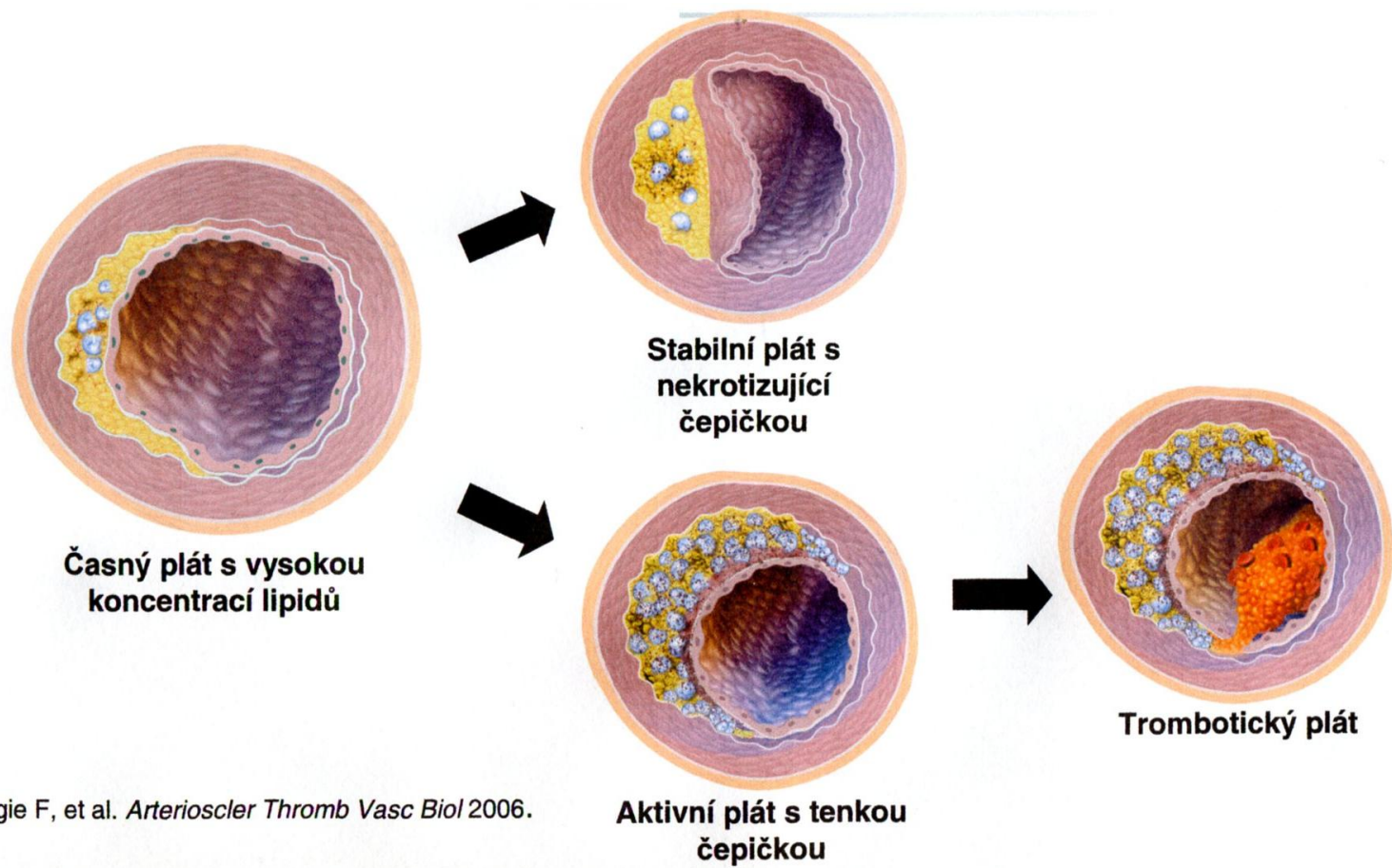
Po prasknutí (rupturou) se krev setká s lipidovým jádrem plátu.

Vnitřek plátu je silně trombogenní - malý glykoprotein (tkáňový faktor) aktivuje zevní koagulační kaskádu.

Tkáňový faktor tvoří komplex s faktorem VII/VIIa, komplex aktivuje faktor IX a X.

Aktivují se krevní destičky – na povrchu prasklého plátu se rychle se vytvoří trombus.

Trombus může zcela ucpat lumen cévy. Vzniká tkáňová nekróza (srdeční infarkt nebo mozková mrtvice).



Určování kardiovaskulárního rizika

Koncentrace lipoproteinů (LDL-cholesterolu, HDL-cholesterolu a triacylglycerolů) v plasmě – ↑ 5.2 mmol/L (200 mg/dL) zvyšuje riziko.

Optimální hladina LDL-cholesterolu -↓ 2.6 mmol/L (100 mg/dL)

Snížení kardiovaskulárního rizika

Riziko vzniku aterosklerózy může být sníženo:

- dietou s nízkou hladinou cholesterolu
- fyzickou námahou
- přestat s kouřením
- kontrolovat vysoký tlak
- léky: statiny, fibráty (deriváty kyseliny fibrové), ezetimib, antioxidanty

Snížení kardiovaskulárního rizika

Statiny – inhibují intracelulární cholesterol syntasu (HMG-CoA reduktasu).

Fibráty - snižují plasmatický cholesterol stimulací LPL, snižují TAG a HDL.

Ezetimib – inhibuje střevní transporter cholesterolu, inhibuje vstřebávání cholesterolu v tenkém střevě.

Používá se často v kombinaci se statiny.

β -karoten, α -tokoferol, vitamin C (obsažené v čerstvém ovoci) mají příznivý preventivní vliv, chrání LDL proti oxidaci.

Vliv statinů na rozvoj aterosklerózy

Statiny ↓ tvorbu cholesterolu, (inhibice HMG-CoA reductasy), inhibuje také vznik produktů mevalonátu.

Produkty mevalonátu ovlivňují buněčnou proliferaci a aktivují eNOS.

Pleiotropic effects of statins

