

VÝZNAM ENDOTELU PRO ROZVOJ KARDIOVASKULÁRNÍCH CHOROB

MUDr. Debora Karetová, CSc.

II. interní klinika VFN a 1. LF UK Praha

Endotel je významným orgánem, který má zásadní vliv na udržení krevního toku, průchodnosti cév a výši krevního tlaku. Endoteliální buňky zaujímají strategickou polohu na rozhraní cirkulující krve a hladké svaloviny cévní stěny a uvolňováním různých humorálních působků kontrolují cévní relaxaci a kontrakci, trombogenezi a fibrinolýzu, aktivaci buněčných elementů krve a jejich inhibici. Těmito komplexními ději vede dysfunkce endotelu k patologickým procesům: aterogenezi, cévním spazmům, arteriální hypertenzi a srdečnímu selhání. Tyto děje pak působí hypoperfuzi orgánů a mechanismem cévní okluze až selhání cílových struktur. Proto je klíčová snaha o minimalizaci působení nežádoucích faktorů na endotel v průběhu života a v případech již vyvinuté endoteliální dysfunkce jako počátečního stadia aterogeneze pak aplikace léků minimalizujících následné orgánové poškození.

Klíčová slova: endotel, endoteliální dysfunkce, rizikové faktory, aterogeneze.

THE IMPORTANCE OF ENDOTHELIUM FOR CARDIOVASCULAR DISEASES

Endothelium is an important organ which plays a key role in the maintenance of blood flow, vessel patency, and appropriate arterial pressure. Endothelial cells are strategically located at the border of circulating blood and smooth muscle cells of the vessel wall, and by releasing of humoral substances they control vascular relaxation and contraction, thrombogenesis and fibrinolysis, activation of blood cells and their inhibition. By these complex mechanisms the endothelial dysfunction leads to the pathological processes: atherogenesis, vascular spasms, arterial hypertension and cardiac failure. These disorders are then responsible for hypoperfusion of organs and could even lead to organ failure by arterial occlusions. Therefore, the effort to minimize undesirable factors affecting endothelial function during the lifetime is important. In the early phases of atherosclerosis when the endothelial dysfunction has already developed it is reasonable to treat with drugs which would diminish the risk of further organ dysfunction.

Key words: endothelium, endothelial dysfunction, risk factors, atherogenesis.

Úvod

Endotel je nepochybně významným orgánem, který u člověka o hmotnosti 70 kg pokrývá až 700 m² a váží 1–1,5 kg. Jde o jednu vrstvu buněk, která vystýlá vnitřní povrch cév, kryje srdeční chlopně a řadu tělesných dutin. Zajímavé je, že ač zasahuje do funkce řady systémů, je teprve krátce vnímán jako svébytný a důležitý orgán. Představy o endotelu se zejména v poslední dekádě změnily: z původní anatomicky definované bariéry oddělující krev od okolních tkání na specializovaný orgán, u kterého lze změřit normální či již patologickou funkci a dokonce jej léčebně ovlivnit. Tento rozvoj poznatků v oblasti endoteliálních regulačních mechanismů vedl k objasnění společného místa působení různých rizikových faktorů vývoje aterosklerózy. Pochopení endoteliální funkce a dysfunkce vedlo tedy k ozřejmení, proč tak různé patologické stavy, jako jsou arteriální hypertenze, hyperlipoproteinémie, kouření či diabetes mellitus, vedou k uniformním cévním změnám.

Fyziologická funkce zdravého endotelu

Funkce zdravého endotelu jsou několikeré. Zásadním způsobem je endotel zodpovědný za cévní tonus – provádí *vazoregulaci* (systémem protikladně působících látek: oxidu dusnatého – NO/ dříve označovaného EDRF, z endotelu derivovaného hyperpolarizujícího faktoru – EDHF, prostacyklinu – PGI₂, endotelinu 1 – ET1, angiotenzinu II – AT II a tromboxanu – TXA₂). Významně se podílí na řízení *hemostázy* (prostřednictvím von Willebrandova faktoru – vWf, fibrinogenu, trombomodulinu, tkáňového faktoru – TF, tromboxanu A₂ a prostacyklinu), ovlivňuje i *fibri-*

nolýzu (pomocí tkáňového aktivátoru plazminogenu – tPA a inhibitoru aktivátoru plazminogenu – PAI-1). Zasahuje též do mechanismu *zánětu* (přes selektiny P a E, adhezivní molekuly – vascular cellular adhesion molecules, tj. VCAM a intercellular adhesion molecules – ICAM, nukleární faktor kappa B). *Permeabilita* endotelu je ovlivňována receptory glykosylovaných konečných produktů (systém RAGE = receptors for advanced glycosylation endproducts). *Angioneogeneze* řízená endotelem je zprostředkována růstovými faktory (vascular endothelial growth factor – VEGF, platelet derived growth factor – PDGF a transforming growth factor β – TGF- β).

Stimulace nepoškozených endoteliálních buněk (hormony, neurotransmitery, působky odvozenými z destiček a koagulačního systému) vede k uvolňování relaxačně působících substancí. Navíc i samotný krevní tok navozuje vazodilataci, která je možná při fyziologické funkci endotelu (hlavní adaptační mechanismus organismu na tělesnou aktivitu – cvičení). Nejdůležitějším relaxačním činitelem, jednoznačně endotelem vyráběným, je oxid dusnatý (NO/EDRF). Prekurzorem v jeho tvorbě je L-arginin, který se přeměňuje pomocí enzymu – syntázy NO (NOS). Tvorba NO je tedy závislá na přítomnosti prekurzoru a aktivitě enzymu – NOS. Některé látky ve zvýšené míře se vyskytující v organismu za patologických okolností (jako například asymetrický dimethylarginin – ADMA – u nemocných v renálním selhání, při diabetu mellitu a hypercholesterolemii) mohou vést k inhibici aktivity tohoto enzymu klíčového pro tvorbu NO. Vlastní relaxace oxidem dusnatým je dána tvorbou cyklického 3',5'-guanosin monofosfátu

(cGMP) účinkem enzymu guanylycyklázy. Hlavní biologickou funkcí NO je tedy vazodilatace, inhibice adheze a agregace destiček, zamezení proliferativních procesů v cévní stěně protizánětlivým působením.

Kromě NO působí relaxačně *prostacyklin* (PGI₂), uvolňovaný vlivem hypoxie, zvýšeným průtokem a řadou působků. Prostacyklin zvyšuje hladinu cyklického 3',5'-adenosin monofosfátu (cAMP) v buňkách hladké svaloviny a v trombocytech, čímž působí nejen relaxačně, ale zejména má vliv na patologicky zvýšenou aktivitu destiček. Synergicky s oxidem dusnatým a prostacyklinem působí i hyperpolarizující faktory.

Brzy po objevu klíčového dilatačně působícího oxidu dusnatého byly identifikovány i opačně působící látky. Nejdůležitějšími kontrakčně působícími činiteli jsou: endotelin-1 (ET-1), ze skupiny prostanoidů – tromboxan A₂ (TXA₂) a prostaglandin H₂ (PGH₂), angiotensin II. **Endotelin-1** je peptid tvořený výlučně endoteliálními buňkami, působící konstričně, čímž může vést k ischemii a arytmiím. Více citlivé k vazokonstričním vlivům endotelinu jsou intramyokardiální tepny, na rozdíl od epikardiálních. Má i prozánětlivé a promitogenní vlastnosti. Existují 2 různé typy endotelinových receptorů: ET_A a ET_B, které zprostředkovávají kontrakci a proliferaci hladkého svalstva cévní stěny. Léčebně se nyní vyvíjejí a klinicky zkoušejí receptoroví antagonisté endotelinu, například v léčbě srdečního selhání. **Tromboxan A₂ a prostaglandin H₂** aktivují tromboxanové receptory destiček a hladké svaloviny cévní, čímž na obou úrovních působí antagonisticky vůči NO. Důležité je i uložení enzymu konvertujícího angiotensin v endoteliích, jehož vlivem se přeměňuje angiotensin I na angiotensin II a degraduje se dilatačně působící bradykinin. **Angiotensin II** aktivuje angiotensinové receptory, které následně stimulují tvorbu ET-1 a dalších mediátorů, například inhibitoru aktivátoru plazminogenu.

V prevenci trombózy se endotel uplatňuje jednak prostřednictvím tvorby NO, který inhibuje adhezi a agregaci trombocytů cestou tvorby cGMP. Obdobný vliv má i prostacyklin. Dále před vznikem trombózy chrání uvolňování tkáňového aktivátoru plazminogenu (t-PA) z endotelií. Opačně působí vzniklý angiotensin II, a sice potenciací tvorby inhibitoru plazminogenového aktivátoru – PAI-1 (inhibitory angiotensin konvertujícího enzymu snižují jeho hladinu).

Důležitá je role endotelu při formování struktury cévní stěny. Nejdůležitější roli zde má růst buněk hladké svaloviny. Endoteliální dysfunkce (natož denudace endotelu) dovoluje adhezi trombocytů ke stěně cévní, následkem vyplavení tromboxanu A₂ a serotoninu vzniká cévní kontrakce a současně může docházet k proliferaci a migraci buněk hladké svaloviny uvolněním růstového faktoru uvolněného z trombocytů (PDGF). Endoteliální buňky tvoří za fyziologických podmínek více inhibitorů růstu (např. heparan sulfátu, NO, růstového faktoru β₁) než promotorů. Za určitých situací však endotelie tvoří v převaze růstové faktory (zejména z destiček odvozený růstový faktor, epidermální růstový faktor a angiotensin II). Tyto faktory zodpovědné za proliferaci se

stávají významnými v situaci, kdy je endotel morfologicky ještě intaktní, funkčně však již abnormální.

Endoteliální dysfunkce (ED)

Endoteliální dysfunkce (ED) je stav charakteristický nerovnováhou mezi faktory dilatačně a kontrakčně působícími, mezi antikoagulačně a prokoagulačně působícími činiteli a mezi inhibitory a promotory růstu. Obecně jde o generalizovaný defekt všech mechanismů homeostázy zajišťované endotelem. Poškození endotelu může být způsobeno mechanickým (fyzikálním) poškozením, jako například v přítomnosti arteriální hypertenze, a biochemickými stimuly – například hypercholesterolémií, diabetem či kouřením. Společným momentem jejich působení je zvýšení oxidativního stresu s nadbytečnou tvorbou oxidových anionů, které degradují předčasně oxid dusnatý. Stejně tak dochází k útlumu aktivity NO syntázy, což dále vede k snížení dostupnosti NO. Endoteliální dysfunkce jako společný moment působení rozličných rizikových faktorů vede následně k **aterogenezi**. Zde se uplatňuje řada mechanismů, počínající zvýšenou adhezí monocytů ke stěně cévní a zvýšenou permeabilitou endotelu. Monocytů ve zvýšené míře tak pronikají subendoteliálně a spolu s abnormně zvýšeným obsahem lipoproteinů (oxid. LDL – lipoprotein o nízké denzitě) tvoří základ pěnových buněk. Endoteliální dysfunkce vede ale i ke zvýšené adhezí trombocytů a vyšší proliferaci a migraci buněk hladké svaloviny.

Diagnostika endoteliální dysfunkce

Ateroskleróza se vyvíjí desetiletí, prakticky od mládí. V počátku jsou změny diskrétní a týkají se především endoteliální funkce. Toto preklinické období je dnes považováno za dobu, kdy je důležité zasáhnout terapeuticky, protože nejranější fáze aterosklerózy – období endoteliální dysfunkce – je ještě stav reverzibilní. Lze však přítomnost endoteliální dysfunkce vůbec zjistit? V současnosti existuje řada testů, které vypovídají o funkci endotelu. Nelze je provádět rutinně, ale výsledky studií u jednotlivých skupin populace (zdraví, nemocní, kuřáci, diabetici, nemocní s dysproteinémiemi apod.) ukazují, že endoteliální dysfunkci lze detekovat a hlavně léčit – přerušением působení rizikových faktorů a specifickými léky. Vzhledem k mnohostranné funkci endotelu jsou prováděny testy, které dílčím způsobem vypovídají o zdraví endotelu, případně rozsahu dosud klinicky se neprojevující aterosklerózy:

1. Určujeme **cirkulující markery endoteliální funkce v plazmě** (případně metabolity v moči): endotelin-1 (endotelem tvořený vazokonstričně působící peptid, s mitogenním účinkem), von Willebrandův faktor (glykoprotein tvořený převážně endoteliemi, důležitý v hemostáze, hladiny zvýšeny u stavů denudace endotelu), aktivátor tkáňového plazminogenu – TPA a inhibitor plazminogenového aktivátoru – PAI-1 (regulují fibrinolytickou aktivitu krve, zvýšeny při vyšším riziku trombotických komplikací), prostanoidy (dilatačně či konstričně působící), adhezivní molekuly (zprostředková-

vající hlavně přichycení leukocytů k endotelu a umožnění následného průniku subendoteliálně).

2. Funkční metody – nejdůležitější je metoda „flow mediated dilatation“ (FMD) – spočívající v posouzení schopnosti dilatace tepny na základě zvýšeného průtoku, a sice po farmakologických nebo fyziologických stimulech, které vyvolávají zvýšené uvolnění NO. (prvé takovéto pozorování bylo publikováno Furchogottem již v roce 1980: při koronární angiografii po infuzi acetylcholinu dilatoval díky uvolnění NO pouze zdravá tepna, při ED se tento efekt nedostaví nebo dojde dokonce k paradoxní vazokonstrikci). V současnosti je jednoznačně dána přednost neinvazivním přístupům, které umožňuje duplexní ultrasonografie: průměr tepen (brachiální, femorální) je posuzován nativně a po zvýšení průtoku (navozeném několikaminutovou ischemií končetiny), kdy opět zdravá tepna je schopna větší dilatace při zvýšeném uvolnění NO. Periferní sonografie umožnila vyšetřování různých skupin – ať již probandů či nemocných s přítomností rizik aterosklerózy průřezově, ale umožnila i prospektivní sledování po odstranění přítomných rizik či po aplikaci léků.
3. Zobrazovací metody preklinických fází aterosklerózy: nejrozšířenější metodou je sonografické hodnocení stavu karotid pomocí parametru tloušťky intimy-medie (IMT – intima media thickness), případně vyhodnocením distenzibility karotické tepny. Se vzrůstající hodnotou IMT a přítomností plátů či dokonce komplikovaných lézí narůstá pravděpodobnost přítomnosti koexistující ischemické choroby srdce (ICHs). Přítomnost a rozsah ještě nestenózujících plátů v koronárních tepnách lze vyhodnotit metodou intravaskulárního ultrazvuku (IVUS – intravascular ultrasonography) při srdeční katetrizaci. Ostatní vysoce sofistikované metody se teprve vyvíjejí – jde o detekci kalcifikací ve stěnách tepen, kterou je schopna zachytit ultrarychlá počítačová tomografie (electron beam CT), angiografie magnetickou rezonancí s vysokou senzitivitou určuje stupeň zúžení tepny – zatím však s dostatečnou citlivostí pouze u přední sestupné koronární tepny.
4. Biochemické parametry progresu a destabilizace aterosklerózy: jde o markery infekce, zánětu obecně (hladina leukocytů, výše C-reaktivního proteinu) a posouzení stavu hemokoagulace (stanovení fibrinogenemie, trombomodulinu, PAI-1, plazmatické viskozity, parametry trombofilie – APC rezistence neboli mutace V. koagulačního faktoru s následnou rezistencí k aktivova-

nému proteinu C, mutace protrombinu – 20210A, abnormální hladiny proteinů C a S).

Z infekčních patogenů je nejvíce zpráv o přítomnosti Chlamydie pneumoniae, Cytomegaloviru a Helicobacteru pylori v cévní stěně. Například chlamydie byly detekovány přímo v plátech, mohou infikovat endotelie, způsobit proliferaci hladké svaloviny a indukovat expresi adhezivních molekul s následnou migrací monocytů do subintimálních vrstev. Není ale definitivně zřejmé, zda infekční agens je nevinný přihlížející nebo naopak kauzální činitel v tepenném poškození. Ani role zvýšené hladiny homocysteinu není zcela jasná, byla zjištěna zhoršená vazoreaktivita brachiální arterie po náloži methioninem a léta se ví o akceleraci aterosklerózy u dětí, které zemřely na homocysteinurii.

Endoteliální dysfunkci nelze striktně oddělit od procesu aterosklerózy. Obecně je sice přijat názor, že ED předchází vývinu aterosklerózy, nicméně se zásadně uplatňuje i v její přítomnosti. Postižení dilatační schopnosti koronární tepny může vyústit v paradoxní vazokonstrikci s následným snížením myokardiální perfuze a tím v ischemii. Navíc ED aktivně moduluje stavbu plátů a podílí se tím na jejich vulnerabilitě – ruptuře. Mechanismem prohloubení endoteliální dysfunkce (zejména zvýšením prokoagulačních tendencí) v přítomnosti již existující aterosklerózy vznikají nestabilní koronární syndromy.

Zajímavé je, že všechny tepny nejsou zasaženy stejně: nejvíce k poškození inklinují epikardiální koronární tepny, mozkové a velké periferní tepny, některé se zdají jako by chráněny (například vnitřní mamární tepna, tepny paže).

Je endoteliální dysfunkce léčitelná?

V současnosti je zřejmé, že minimálně 2 skupiny léků zásadně zlepšují kardiovaskulární prognózu u nemocných s endoteliální dysfunkcí. Jde o léky snižující hladinu LDL cholesterolu – *statiny a inhibitory angiotenzin konvertujícího enzymu (ACEi)*. U statinů je zřejmé, že endotel ovlivňují příznivě komplexním mechanismem, nezávislým na výši vstupní hladiny cholesterolu a na velikosti její redukce. Stejně tak vliv ACEi je dán řadou vlivů: snižují vliv angiotenzinu II a zvyšují množství bradykininu v organizmu, mají antioxidantní vlastnosti, příznivý vliv na fibrinolytickou kapacitu. Zlepšení ED může být jedním z důležitých mechanismů omezení vzniku kardiovaskulárních příhod. Na druhou stranu je nutno přiznat, že žádná z velkých důležitých studií sekundární prevence (např. studie 4S, HOPE) neměřila funkci endotelu prospektivně, proto možnost zlepšení

Tabulka 1.

stavy spojené s endoteliální dysfunkcí	dyslipoproteinémie, arteriální hypertenze, stárnutí, kouření, diabetes mellitus, inaktivita, obezita, renální selhání, potransplantační stavy, hyperhomocysteinémie, metabolické syndromy s inzulinovou rezistencí, srdeční selhání, vaskulitidy
biochemické markery ED	ET-1, asymetrický dimethylarginin, tPA, fibrinogen, cytoadhezivní molekuly, CRP, von Willebrandův faktor
léčba ED	jednoznačně přínosná: ACEi, statiny; otazná: blokátory endotelinu, estrogeny, tetrahydrobiopterin, L-arginin, foláty, antioxidanta, antibiotika

prognózy nemocných úpravou dysfunkce endotelu je spekulativní závěr.

U ostatních zkoumaných léčiv nejsou dostupná data na tak velkých souborech jako u statinů a ACEi. Příznivý vliv na funkci endotelu mohou však mít i další léky, jakými jsou např. blokátory endotelinu, blokátory receptorů pro angiotenzin, tetrahydrobiopterin (prekursor L-argininu), léky snižující hladinu homocysteinu (kyselina listová, pyridoxin), léky s antioxidantním působením (vitaminy), estrogény. Nicméně neexistují dosud studie, které by příznivý dopad na kardiovaskulární morbiditu a mortalitu u těchto léků na tisícových souborech nemocných prokázaly.

Literatura

1. Anderson TJ, Elstein E, Haber H, et al. Comparative study of ACE-inhibition, angiotensin II antagonism, and calcium channel blockade on flow-mediated vasodilatation in patients with coronary disease (BANFF study). *J Am Coll Cardiol* 2000; 1: 60–66.
2. Benitez RM, Vogel RA. Assessment of subclinical atherosclerosis and cardiovascular risk. *Clin Cardiol* 2001; 24: 642–650.
3. Bultas J, Karetová D. Endoteliální dysfunkce, aterogeneze a možnosti farmakologického ovlivnění. *Remedia* 1998; 6: 366–380.
4. Halcox JPJ, Quyyumi AA. Coronary vascular endothelial and myocardial ischemia: why should we worry about endothelial dysfunction? *Coronary Artery Disease* 2001; 12: 475–484.
5. Luescher TF, Barton M. Biology of endothelium. *Clin Cardiol* 1997; (Suppl. II): II-3-II-10.
6. Poredoš P. Endothelial Dysfunction in the Pathogenesis of Atherosclerosis. *Clin Appl Thrombosis/Hemostasis* 2001; 4: 276–280.
7. Ross R. Atherosclerosis – an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340: 115–126.
8. Takemoto M, Liao JK. Pleiotropic effects of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme reductase inhibitors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21: 1712–1719.
9. Vallance P, Chan N. Endothelial function and nitric oxide: clinical relevance. *Heart* 2001; 85: 342–350.

Závěr

V posledních letech došlo k velkému pokroku v hodnocení role endotelu v udržení průchodnosti cév, ve zjištění mechanismů vzniku endoteliální dysfunkce a dokonce na základě odhalení těchto patofyziologických dějů lze i porušenou funkci endotelu příznivě ovlivnit. Největších úspěchů bylo dosaženo aplikací inhibitorů angiotenzin konvertujícího enzymu a statinů (významné snížení kardiovaskulární mortality a morbiditu). Další terapeutické postupy, které sice v pokusu zlepšují endoteliální funkci (zejména hormonální substituce a antioxidační terapie vitaminy) však při dlouhodobé aplikaci nedaly příznivé výsledky.