

ENDOTELIÁLNÍ DYSFUNKCE, MOŽNOSTI JEJÍ DETEKCE A VYUŽITÍ V KLINICKÉ PRAXI

MUDr. David Karásek Ph.D.¹, prof. MUDr. Helena Vaverková CSc.¹,

MUDr. Milan Halenka¹, MUDr. Martin Hutýra Ph.D.²

¹III. interní klinika LF UP a FN Olomouc

²I. interní klinika LFUP a FN Olomouc

Endoteliální dysfunkce představuje časnou, morfologicky němou fází aterosklerózy, proto byla zejména v posledním desetiletí podrobena intenzivnímu výzkumu. Autoři ve svém sdělení popisují základní fyziologické funkce endotelu, příčiny a projevy endoteliální dysfunkce, její uplatnění v patogenezi aterosklerózy. Dále se věnují možnostem detekce endoteliální dysfunkce a jejímu praktickému využití v běžné klinické praxi.

Klíčová slova: ateroskleróza, endotel, endoteliální dysfunkce, flow mediated dilatation.

ENDOTHELIAL DYSFUNCTION, FACILITIES OF ITS DETECTION AND ITS USE IN CLINICAL PRACTICE

Endothelial dysfunction is the first step in the development of arteriosclerosis, thus it was examined particularly in the last decade. Authors describe basic functions of endothelium, causes and manifestation of endothelial dysfunction and its part in pathogenesis of arteriosclerosis. They also present facilities of detection of endothelial dysfunction and its use in current clinical practice.

Key words: arteriosclerosis, endothelium, endothelial dysfunction, flow mediated dilatation.

Endotel a jeho fyziologické funkce

Endotel tvoří jednovrstevnou vnitřní výstelku cévního lumen. Endoteliální buňky mají nepravidelný podlouhlý tvar s délkou okolo 25-50 µm, šířkou 10-15 µm a výškou do 5 µm. Celkový povrch endotelu představuje plochu asi 500-1000 m², jeho hmotnost je odhadována přibližně na 1,5–3 kg. Dlouhou dobu se předpokládalo, že endotel tvoří pouze buněčnou bariéru oddělující cévní stěnu od krve a zajišťuje nesmáčivý povrch cévního lumen. Výzkum v posledních letech však prokázal, že endotel je metabolicky velmi aktivní orgán s celou řadou fyziologických funkcí (3, 8).

Jednou ze základních funkcí endotelu je zajištění řízené propustnosti mezi krví a okolními tkáněmi. Endotel kontroluje prostup jak pro buněčné elementy, tak pro nebuněčné krevní komponenty. Nebuněčné komponenty využívají pro svou cestu paracelulární i transcelulární transportní mechanismy. Prostup krevních elementů – leukocytů je realizován za pomoci vazoadhezivních molekul, kterých endotel na svém povrchu exprimuje celou řadu (E-selektin, ICAM-1, VCAM-1, PECAM-1) (3).

Druhou úlohou endotelu je kontrola optimálního průtoku krve cévou. Mezi nejdůležitější látky s vazoadktivním účinkem, které jsou produkovány endotelem, patří oxid dusnatý (NO). Jeho tvorba je zprostředkována NO-syntázou, která je aktivována smyčkovým napětím krevního proudu (shear-stress), hypoxií a celou řadou lokálních působků. NO

má mohutný vazodilatační účinek, inhibuje expresi adhezivních molekul, adhezi a agregaci trombocytů a apoptózu endoteliálních buněk. Brzdí též migraci myocytů z médiu, jejich proliferaci a transformaci v sekreční buňky. Další vazodilatační látkou produkovanou endotelem je prostacyklin. Prostacyklin je uvolňován za obdobných situací jako NO a jejich účinek se navzájem potencuje. Třetím vazodilatačně působícím faktorem je endothelium – derived hyperpolarizing factor, jehož hlavní biologickou úlohou je pravděpodobně vazodilatace v koronárním řečišti. K zachování rovnováhy vzniká v endotelu několik látek s vazokonstrikčním působením. Jde především o endotelin-1. Vedle podnětů, které vedou i k uvolnění NO (např. bradykinin, angiotenzin II, shear stress), jeho syntézu stimulují některé aterogenní proteiny (trombin), či lipoproteiny (oxidovaný LDL). V intaktních cévách působí endotelin-1 bimodálně – vazokonstrikční účinek je mírněn současnou stimulací produkce NO a prostacyklinu. Plná vazokonstrikce se objeví až při poškození endotelu. Endotelin-1 také stimuluje proliferaci myocytů v cévní stěně. Na povrchu endotelu je též vázán angiotenzin-konvertující enzym a endotel může prostřednictvím změny jeho aktivity ovlivňovat hladiny angiotenzinu II a bradykininu (3, 4, 16).

Další funkcí endotelu je zajištění integrity cévního řečiště. Intaktní endotel je dokonale nesmáčivým povrchem. Již při pouhé deskvamaci endoteliálních buněk dochází k absorpci von Willebrandova faktoru (vWF) a ten pro-

střednictvím destičkových receptorů aktivuje adhezi trombocytů, které se vážou na subendoteliálně lokalizovaná vlákna kolagenu. Poté dochází k jejich aktivaci a degranulaci, což vede k uvolnění řady dalších proagregačně a vazokonstrikčně působících látek. Prostřednictvím destičkových receptorů IIb/IIIa a fibrinogenu destičky agregují. Primární, destičková fáze hemokoagulace je doprovázena sekundární hemostázou, na jejímž konci je přeměna fibrinogenu trombinem v nerozpustný fibrin. I tato fáze je ovlivnitelná endotelem. Endotel váže na svém povrchu antitrombin III, který inaktivuje trombin a vzniklý komplex je z cirkulace odstraněn. Endotel také produkuje trombomodulin. Komplex trombomodulin-trombin má již omezenou schopnost štěpit fibrinogen, navíc aktivuje protein C, který – v komplexu s proteinem S – inaktivuje faktory Va a VIIIa a tím inhibuje koagulaci. Endotel kontroluje navíc i fibrinolýzu. Klíčovým enzymem štěpícím molekuly fibrinu je plasmin. Ten vzniká z cirkulujícího plasminogenu působením tkáňového aktivátoru plasminogenu (t-PA). Ten naopak může být inhibován svým inhibitorem (PAI-1). Jak t-PA, tak PAI-1 jsou v endotelu syntetizovány a mohou být v různém poměru uvolňovány (3, 4, 10, 16).

Endotel může zasahovat i do reparativních procesů a angiogeneze. Reparativní pochody v cévní stěně jsou kontrolovány řadou cytokinů. Mezi růstové faktory a cytokiny endoteliálního původu jsou řazeny např. transformující růstový faktor beta, fibroblastový růstový

faktor, destičkový růstový faktor, interleukin-1, endotelin-1. Tyto mitogeny stimulují růst buněk hladké svaloviny, jejich migraci do subendoteliálního prostoru z média s následnou hyperplázií intimy a hypertrofií cévní stěny. Naopak velmi významným antimitogenem je NO, který inhibuje proliferaci buněk hladké svaloviny a zabraňuje hypertrofii cévní stěny (3).

Endoteliální dysfunkce

Endoteliální dysfunkce je definována jako funkční poškození endotelu, charakterizované především zvýšenou propustností cévní stěny, nerovnováhou mezi vazodilatačními, hemokoagulačními a proliferací inhibujícími, resp. stimulačními faktory. Mimo selektivní zvýšení permeability se projevuje sklonem k vazospazmu, resp. nedostatečnou vazomotorickou odpovědí na endotel-dependentní podnět (někdy dokonce paradoxní vazokonstrikcí), tendencí k trombóze a nedostatečnou inhibicí subendoteliální proliferace. Představuje časnou, morfologicky němou fázi aterosklerózy, avšak podílí se i na vývoji morfologicky zřejmých aterosklerotických lézí a přispívá ke klinické manifestaci aterosklerózy. Hraje důležitou roli také v patogenezi hypertenze, srdečního selhání, renálního selhání, komplikací diabetes mellitus, sepse a dalších chorob (3, 4, 16).

Existuje řada příčin endoteliální dysfunkce. Většina z nich jsou známé rizikové faktory aterosklerózy. Mezi hlavní příčiny patří arteriální hypertenze, hyperlipoproteinémie (zejména hypercholesterolémie a především zvýšená hladina LDL, přičemž nejnebezpečnější jsou oxidované či glykované LDL), hyperglykémie, hyperinzulinémie, hypoxie, hyperhomocysteinémie, kouření, ionizující záření, cytostatika, stárnutí, imunokomplexy a různé infekce. Je zřejmé, že např. u diabetu působí navzájem několik rizikových faktorů, které vznik endoteliální dysfunkce akcelerují. K těmto systémovým faktorům se mohou přidat lokálně působící faktory jako jsou turbulence krevního toku (bifurkace cévy, menší fixace cévy k okolí), vrozené či získané cévní anomálie, či intravaskulární výkony (angioplastika) (3, 8, 11).

Role endoteliální dysfunkce v patogenezi aterosklerózy

Endoteliální dysfunkce se podílí na vývoji jak časných tak i pozdních fází aterosklerózy. Dysfunkční endotel umožňuje vyšší průnik aterogenních lipidů. Zvýšenou expresí adhezivních molekul a produkcí některých cytokinů usnadňuje akumulaci monocytů v cévní stěně, jejich přeměnu v makrofágy a pěnové buňky. Nedostatečná produkce NO vede k uplatnění řady růstových faktorů, stimulačních buňky hladkého svalstva k migraci do subendoteliálního prostoru a k produkci extracelulární vazi-

vové komponenty aterosklerotických lézí. Již v těchto fázích, kdy morfologické změny cévy nejsou přítomné, nebo jsou hemodynamicky nevýznamné, se může klinicky manifestovat přítomný sklon k vazospazmům, např. formou mikrovaskulární anginy pectoris, či tranzitorní mozkové ischemie.

I v pozdějších fázích endoteliální dysfunkce akceleruje vývoj aterosklerózy. Podílí se na akumulaci makrofágů a pěnových buněk v aterosklerotickém plátu a prostřednictvím jejich metaloproteináz, které mohou rozrušovat fibrózní čepičku plátu, zvyšuje jeho vulnerabilitu. Nedostatečná produkce NO, prostacyklinu a dalších působků inhibujících adhezi a agregaci destiček a naopak zvýšená exprese von Willebrandova a tkáňového faktoru navozují protrombogenní stav. A tak ruptura i hemodynamicky nevýznamného plátu s nasedající trombózou, může vést k rychlému uzavření tepny zvláště, když endoteliální dysfunkci provází snížená fibrinolýza. K úplnému uzavření tepny může také přispět již zmíněný zvýšený sklon k vazospazmům (3, 8, 11).

Možnosti detekce endoteliální dysfunkce

Existuje více možností jak detekovat a eventuelně kvantifikovat endoteliální dysfunkci. Snížení biologické dostupnosti NO v důsledku endoteliální dysfunkce je patofyziologickým podkladem omezené schopnosti tepenné stěny reagovat přiměřenou vazodilatací na určité, tzv. endotel-dependentní podněty. Zobrazovací metody stanovující endoteliální dysfunkci na základě reakce cévní stěny lze rozdělit na invazivní a neinvazivní. Přímo v koronárním řečišti lze pomocí kvantitativní koronarografie, či intrakoronární dopplerovské ultrasonografie posuzovat schopnost dilatace epikardiálních věnčitých tepen po podání infúze acetylcholinu, který představuje endotel-dependentní podnět, obdobně jako bradykinin, či L-arginin. Ke srovnání lze užít endotel-independentní podněty např. nitráty, adenosin, či papaverin.

Vzhledem k invazivitě, náročnosti na prostorové a přístrojové vybavení byly vyvinuty jiné, neinvazivní a méně náročné metody. Použití těchto metod vychází z předpokladu, že endoteliální dysfunkce je systémový děj a že výsledky získané na vyšetřované tepně extrapolují stav arteriálního řečiště v ostatních méně přístupných a přitom klinicky významnějších lokalizacích. Mezi ultrazvukové metody detekující endoteliální dysfunkci se řadí měření dilatace tepny zprostředkované průtokem – flow-mediated dilatation (FMD) a někteří sem řadí také změny v průtoku krve během reaktivní hyperémie, které lze detekovat dopplerometricky. Jde o maximální průtok během prvních

sekund reaktivní hyperémie – peak blood flow (PBF) a procentuální vzestup průtoku ve srovnání s klidovým průtokem – blood flow increase (BFI). Zatímco hodnota FMD je závislá na lokální vazomotorické funkci v přesně definovaném arteriálním segmentu, PBF a BFI odrážejí sumární vazomotoriku mnohem větší části arteriálního řečiště a proto jsou mnohem výraznější. Dalším neinvazivním způsobem měření změn krevního průtoku nejčastěji v oblasti předloktí je okluzní pletysmografie (3, 4, 13, 16).

Jiným způsobem vyšetření endoteliální dysfunkce je měření koncentrací endoteliálních působků. Nejlépe vypovídají o funkci endotelu vzorky krve získané přímo z postiženého místa, např. při koronarografii, což však vyžaduje invazivní přístup. Je však možné a v praxi více používané stanovení plasmatických, či sérových koncentrací z žilní krve. Toto stanovení však může být ovlivněno biotransformací endoteliálního působku v organismu, či paralelně probíhajícím patologickým procesem, např. zánětem. Podle potřeby lze hodnotit nativní koncentrace, či koncentrace po stimulaci (fyzickou zátěží, farmaky a pod.). Ideální by bylo stanovení NO, to je však pro jeho nestabilitu obtížné. Dostupnější je stanovení jiných endoteliálních působků – např. angiotenzinu II, endotelinu, vazoadhezivních molekul, t-PA, PAI-1, trombomodulinu či vWF (3,16).

Flow mediated dilatation

Tato metoda byla poprvé popsána Celermajerem et al. (6). Je založena na stanovení endotel-dependentní postischemické vazodilatace tepny, která je ultrazvukově vyšetřena dobře dostupná. Vyšetřovanou tepnou je nejčastěji a. brachialis, eventuelně a. poplitea, u dětí to může být a. femoralis superficialis (6, 17). (obrázek 1 + obrázek 2).

Použití FMD jako náhradního markeru pro postižení koronárního řečiště se opírá o výsledky prací, které prokázaly, že FMD koreluje s abnormální vazomotorickou odpovědí v oblasti koronárních tepen, se stupněm koronární aterosklerózy i s incidencí kardiovaskulárních příhod (1, 15). S poklesem FMD jsou asociovány i hlavní rizikové faktory aterosklerózy. Již zmíněné první použití metody Celermajerem et al. prokázalo snížení FMD u dětí s familiární hypercholesterolémií, u dospělých kuřáků a u jedinců s již diagnostikovanou koronární nemocí. Snížená FMD byla detekována také v přítomnosti dalších rizikových faktorů jako jsou: pozdní věk, hypertenze, diabetes mellitus, rodinná anamnéza koronární nemoci, menopauza, nedostatek pohybu, hyperhomocysteinémie, či obezita (5, 6, 9, 13, 20). My sami jsme zaznamenali pokles FMD u jedinců v rodinách s familiární kombinovanou hyper-

lipidemií (12). FMD byla také použita ke sledování vlivu intervenčních opatření. Výsledky některých studií potvrdily reverzibilitu endoteliální dysfunkce měřenou FMD při léčbě statiny u pacientů s hypercholesterolémií. Také podávání fibrátů i statinů u kombinované hyperlipidémie bylo provázáno nárůstem FMD. Dále

bylo prokázáno, že antihypertenzivní terapie ACE inhibitory, zanechání kouření u kuřáků a např. i zvýšení fyzické aktivity u hypomobilních jedinců mělo pozitivní vliv na úpravu FMD (5, 9, 14, 19, 20).

Je známo, že FMD je závislá na řadě faktorů (bazálním průměru vyšetřované tepny, požití

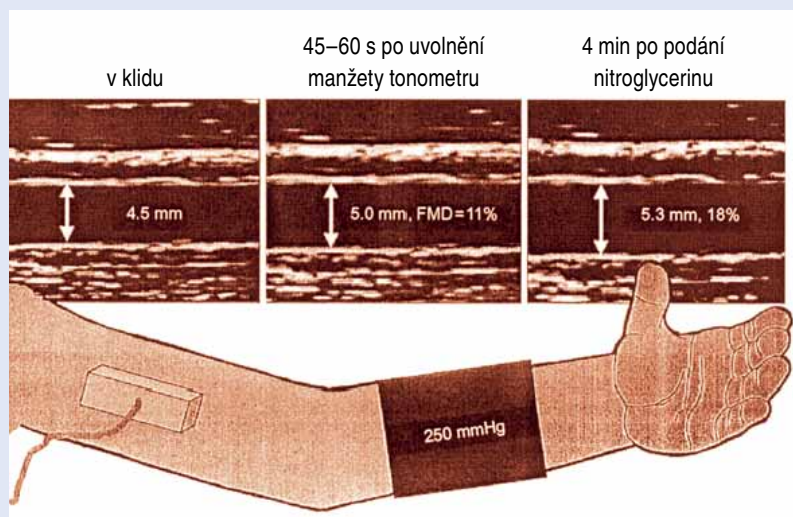
alkoholu, kofeinu, tučného jídla, kouření, předchozí fyzické aktivitě, psychické pohodě, u žen na fázi menstruačního cyklu, užívání různých léků i vitamínů, např. vitamínu C). Dále záleží na technickém vybavení, způsobu vyhodnocování a erudici vyšetřujícího a zřejmě i na celé řadě dalších faktorů. Vzhledem k tomu není překvapivé, že závěry jednotlivých studií přinášejí velmi heterogenní škálu výsledných hodnot FMD a to jak ve skupinách postižených, tak i zdravých jedinců. Navíc má většina pracovišť vypracovaný vlastní protokol vyšetření, což ještě víc komplikuje vzájemné srovnávání výsledků. Snaha o sjednocení a standardizaci vyšetřovacího protokolu vedla skupinu expertů k vypracování guidelines pro stanovení FMD (7). Doporučení se věnují přípravě pacienta, technickému vybavení a správnému zobrazení vyšetřované tepny, standardizují provedení vyšetření a následnou analýzu ultrazvukového záznamu. Velký důraz je kladen na erudici, psychickou a fyzickou pohodu vyšetřujícího, neboť na něm nejvíc závisí kvalita záznamu. V pravidelných intervalech by měla být stanovována variabilita vyšetření. Kvalita stanovení a ovlivnění FMD výše uvedenými faktory určují reproducibilitu tohoto vyšetření, která je v poslední době mnohými diskutována.

I když je stanovení FMD neinvazivní a minimálně zatěžuje pacienta, jde o vyšetření relativně náročné, jak po stránce přístrojového vybavení (kvalitní ultrazvukový přístroj, počítač, software pro analýzu záznamů, event. stereotaktický fixátor ultrazvukové sondy), tak personálního obsazení. Přestože někteří autoři považují FMD za možného prediktora kardiovaskulárních chorob integrujícího v sobě vliv zevních faktorů i genetických dispozic, bude třeba ještě více studií, které určí, zda endoteliální dysfunkce brachiální tepny identifikuje jedince ohroženého manifestací aterosklerózy spolehlivě, zda tato metodika je dostatečně reprodukcibilní a naopak její biologická variabilita dostatečně nízká, aby získané výsledky byly validní.

Závěr

V dnešní době máme k dispozici několik možností jak detekovat a event. i kvantifikovat endoteliální dysfunkci, která je obecně akceptována jako iniciální stádium aterosklerózy. Avšak význam těchto vyšetření pro individuálního pacienta není jednoznačně určen. Existují celkem relevantní data, že se FMD a z laboratorních markerů především hladiny ICAM-1, vWF a PAI-1 mohou podílet na predikci rizika manifestace aterosklerózy, event. i na rekurenci kardiovaskulárních příhod (1, 7, 15, 18). Ovšem teprve další výzkum ukáže, do jaké míry lze tato data aplikovat na všeobecnou populaci, jaký bude jejich podíl na určení in-

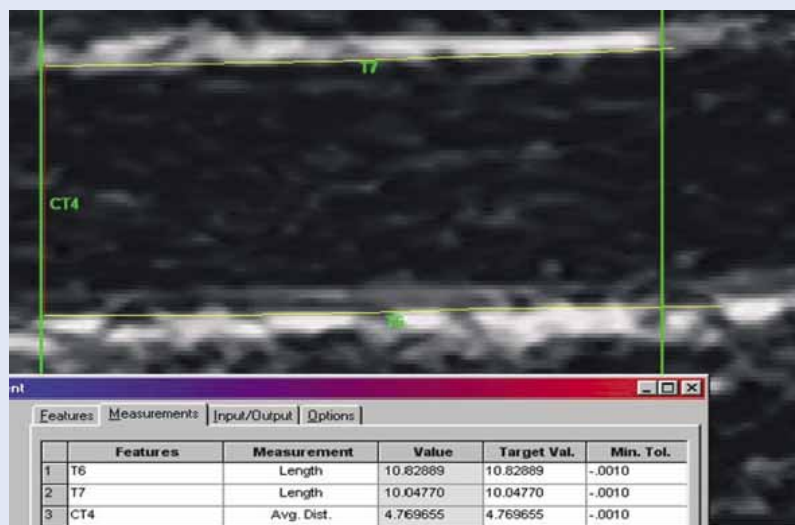
Obrázek 1. Stanovení FMD (průtokem navozené dilatace) a. brachialis



Ultrazvukový obraz a. brachialis je během celého vyšetření snímán sondou ultrazvukového přístroje a nahráván na záznamové médium. Záznam se provádí v klidu a během reaktivní hyperémie. Reaktivní hyperémie navazuje na periferní ischemii. Ta je způsobena kompresí předloktí manžetou tonometru nafouknutou na suprasystolický tlak. Ischemie vede k periferní vazodilataci s následným zvýšením průtoku po uvolnění manžety tonometru. Hyperémie smyčkovým napětím zvyší lokální produkci NO, což vede k vazodilataci. Změna průměru a. brachialis je potom mírou funkce či dysfunkce endotelu. Někteří autoři doplňují vyšetření ještě o měření endotel independentní dilatace po sublinguálním podání nitroglycerinu.

Volně upraveno podle Raitakari O.T. et Celermajer D.S.: Flow-mediated dilatation, Br J Clin Pharmacol, 2000; 50: 397–404.

Obrázek 2. Měření průměru a. brachialis



Vlastní měření průměru brachiální tepny probíhá následně ze záznamu ultrazvukového obrazu za pomoci příslušného počítačového softwaru na konci diastoly (kmit R na simultánně snímaném EKG). Měří se vzdálenost mezi přední a zadní tzv. M-linií (hranice mezi médií a adventicií tepny). FMD se vypočte podle vzorce: $FMD = [(reaktivní\ průměr\ tepny / klidový\ průměr\ tepny) - 1] \cdot 100$ a je tedy vyjádřena v procentech.

(foto – archiv autora).

dividuálního kardiiovaskulárního rizika, jak budou jednotlivá vyšetření v praxi nákladná a dostupná a zda některé z nich bude odbornými společnostmi přijato do doporučení vyšetřovacích algoritmů jejich preventivních programů. Doposud stanovení kteréhokoli z markerů endoteliální dysfunkce, včetně FMD, zůstává nadále výzkumnou metodou a jeho využití v klinické praxi nelze zatím doporučit.

Literatura

1. Anderson TJ, Uehata A, Gerhard MD. Close relation of endothelial function in the human coronary and peripheral circulations. *J Am Coll Cardiol* 1995; 26: 1235–1241.
2. Ballantyne CM, Entman ML. Soluble adhesion molecules and the search for biomarkers for atherosclerosis. *Circulation* 2002; 106: 766–767.
3. Bultas J, Cífková R, Češka R, et al. Od endoteliální dysfunkce k ischemické chorobě srdeční. Praha: Galén 1999. 127 s.
4. Celermajer DS. Endothelial dysfunction: Does it matter? Is it reversible? *J Am Coll Cardiol* 1997; 30: 325–333.
5. Celermajer DS, Sorensen KE, Georgakopoulos D, et al. Cigarette smoking is associated with a dose-related and potentially reversible impairment of endothelium-dependent dilatation in healthy young adults. *Circulation* 1993; 88: 2149–2155.
6. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 1992; 340: 1111–1115.
7. Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, et al. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilatation of brachial artery: A report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J Am Coll Cardiol* 2001; 39: 257–265.
8. Češka R. Cholesterol a ateroskleróza. Léčba hyperlipidemií. Praha: Maxdorf 1999: 226 s.
9. de Souza CA, Shapiro LF, Clevenger CM, et al. Regular aerobic exercise prevents and restores age-related declines in endothelial-dependent vasodilation in healthy men. *Circulation* 2000; 102: 1351–1357.
10. Galajda P, Mokáň M, et al. Poruchy hemostázy při diabetes mellitus. *Vrútky: Prokonzult* 2001: 255 s.
11. Gregor P, Widimský P, et al. Kardiologie. Praha: Galén 1999: 595 s.
12. Karásek D, Vavrková H, Hutýra M, et al. Endoteliální dysfunkce u členů rodin s familiární kombinovanou hyperlipidemií. *Vnitř Lék* 2003; 8: 623–629.
13. Malík J, Melenovský V, Wichterle D, et al. Both fenofibrate and atorvastatin improve vascular reactivity in combined hyperlipidaemia (fenofibrate versus atorvastatin trial – FAT). *Cardiovasc Res* 2001; 52: 290–298.
14. Mancini GBJ, Henry GC, Macaya C, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibition with quinapril improves endothelial vasomotor dysfunction in patients with coronary artery disease: The TREND (Trial on Reversing Endothelial Dysfunction) Study. *Circulation* 1996; 94: 258–265.
15. Neunteufl T, Heher S, Katzenschlager R, et al. Late prognostic value of flow-mediated dilatation in the brachial artery of patients with chest pain. *Am J Cardiol* 2000; 86: 207–210.
16. Pířha J, Roztočil K, Cífková R, et al. Endoteliální dysfunkce a její hodnocení. *Cor Vasa* 2001; 43: 452–456.
17. Raitakari OT, Celermajer DS. Flow mediated dilatation. *Br J Clin Pharmacol* 2000; 50: 397–404.
18. Schumacher A, Seljeflot I, Somervoll L, et al. Increased levels of endothelial haemostatic markers in patients with coronary heart disease. *Thromb Res* 2002; 105: 25–31.
19. Simons LA, Sullivan D, Simons J, et al. Effects of atorvastatin monotherapy and simvastatin plus cholestyramin on arterial endothelium function in patients with severe primary hypercholesterolaemia. *Arteriosclerosis* 1998; 137: 197–203.
20. Vogel RA. Brachial artery ultrasound: A non-invasive tool in the assessment of triglyceride-rich lipoproteins. *Clin Cardiol* 1999; (Suppl 2/22): 34–39.