

Zánět a ateroskleróza

Rudolf Poledne¹, Ivana Králová Lesná^{1,2}

¹Centrum experimentální medicíny, Laboratoř pro výzkum aterosklerózy IKEM, Praha

²Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny 1. LF UK a ÚVN - Vojenská fakultní nemocnice Praha

Souhrn

Přes velmi úspěšnou terapii hypercholesterolemie a hypertenze připadá v rozvinutých společnostech stále asi 50 % úmrtí na kardiovaskulární nemoci. To může být vysvětleno vlivem sterilního zánětu v tukové tkáni a následně proinflamačního stavu celého organismu. Metoda vysoce senzitivního stanovení C-reaktivního proteinu (hsCRP) umožnila v rozsáhlých epidemiologických studiích prokázat, že jeho mírně zvýšená koncentrace odhaluje individuální zvýšené riziko infarktu myokardu. Skutečnost je ale poněkud složitější, protože koncentrace hsCRP významně souvisí s hlavními rizikovými faktory kardiovaskulárních nemocí – věkem, BMI a kouřením. Prokázalo se, že zvýšená proporce proinflamačních makrofágů ve viscerální tukové tkáni vzrůstá s věkem (rozdílně u mužů a žen), se zvýšeným obsahem tělesného tuku a s koncentrací non-HDL-cholesterolu. Předpokládá se, že takto indukovaný proinflamační stav a zmnožení proinflamačních makrofágů v tukové tkáni působí v rozvoji aterosklerózy synergně s věkem, BMI a hypercholesterolemií.

Klíčová slova: ateroskleróza – kardiovaskulární nemoci – zánět

Inflammation and atherosclerosis

Summary

Although current treatment of hypertension and hypercholesterolemia is most effective, cardiovascular mortality still remains at 50 % in industrialized countries. This could be explained by the rather high contribution of the inflammatory process to atherogenesis development. Use of high-sensitivity C-reactive protein (hsCRP) determination in several large epidemiological studies has made it possible to document increased risk of myocardial infarction in individuals with slightly increased hsCRP concentrations, which could thus serve as a discriminatory factor in cardiovascular disease risk assessment. However, the situation is not that simple since hsCRP concentrations correlate significantly with BMI, age and smoking as major cardiovascular risk factors. Increased proportion of pro-inflammatory macrophages in visceral adipose tissue has also been shown to rise with BMI, age (differently in men and women) and non-HDL-cholesterol levels. It has been suggested that the pro-inflammatory status induced by a higher proportion of pro-inflammatory macrophages in visceral adipose tissue acts synergistically in atherogenesis development.

Key words: atherosclerosis – cardiovascular disease – inflammation

Úvod

Výzkumem patofyziologie aterosklerózy se už od konce 19. století prolínají dvě rozdílné hypotézy – **inkrustační** (považující cholesterol jako hlavní agens vzniku lézí) a **inflamační** (považující zánětlivé procesy ve stěně cévní jako hlavní příčinu morfologických změn). Obě hypotézy byly vzneseny dvěma vysoce uznávanými německými patology (Virchow a Rokitansky) koncem 19. století. Na rozdíl od inflamační hypotézy, která čekala století na potvrzení, inkrustační teorie byla ještě před 1. světovou válkou potvrzena experimentálně. Králíci krmení tukovou dietou s cholesterolem vyvinuli během několika týdnů v aortě léze, které se v mnoha směrech podobají lézím nalezeným ve velkých a středních tepnách u člověka [1]. Cholesterolová inkrustační hypotéza byla

opakovaně a důkladně prokázána rozvíjejícím se biomedicínským výzkumem po 2. světové válce. Význačný nutricionista Ancel Keys nejdříve na realimentačních pokusech na armádních dobrovolnících [2] a poté v rozsáhlé epidemiologické studii v 7 zemích [3] demonstroval, že zvýšený příjem živočišných tuků a cholesterolu má vliv na rozvoj aterosklerotických změn a na mortalitu kardiovaskulárních komplikací. Dnes víme, že vysoký příjem nasycených mastných kyselin (Saturated Fatty Acid – SAFA) v živočišných tucích zvyšuje koncentraci cholesterolu v séru neseného ve frakci nízkodenzitních lipoproteinů (LDL), a to zejména ovlivněním specifických receptorů v játrech [4]. Zvýšená koncentrace těchto lipoproteinů v plazmě pak ovlivňuje chování makrofágů iniciujících patologické změny v cévní stěně [5].

Inkrustační teorie

Inkrustační teorie tedy předpokládá, že aterosklerotické změny souvisejí vedle genetické podmíněnosti [5,6] především se složením stravy. Vyšší proporce SAFA v živočišných tucích v dietě riziko aterogeneze zvyšuje, a naopak dieta s vyšší proporcí nenasycených mastných kyselin (PUFA), zejména těch, které mají dvojnou vazbu v pozici n3, koncentraci LDL-cholesterolu a riziko kardiovaskulárních nemocí snižují. Toto stanovisko bylo v 60. a 70. letech minulého století opakovaně prokázáno [6–8], ale epidemiologická data z posledních let jsou mnohem méně jasná. Rozsáhlá dlouhodobá prospektivní studie amerických zdravotníků (American Health Professional Study) demonstrovuje jen velmi slabou (nicméně statisticky významnou) korelaci mezi příjmem SAFA a rizikem koronární nemoci [9] a studie z Holandska dokonce žádný statisticky významný vztah nenašla [10].

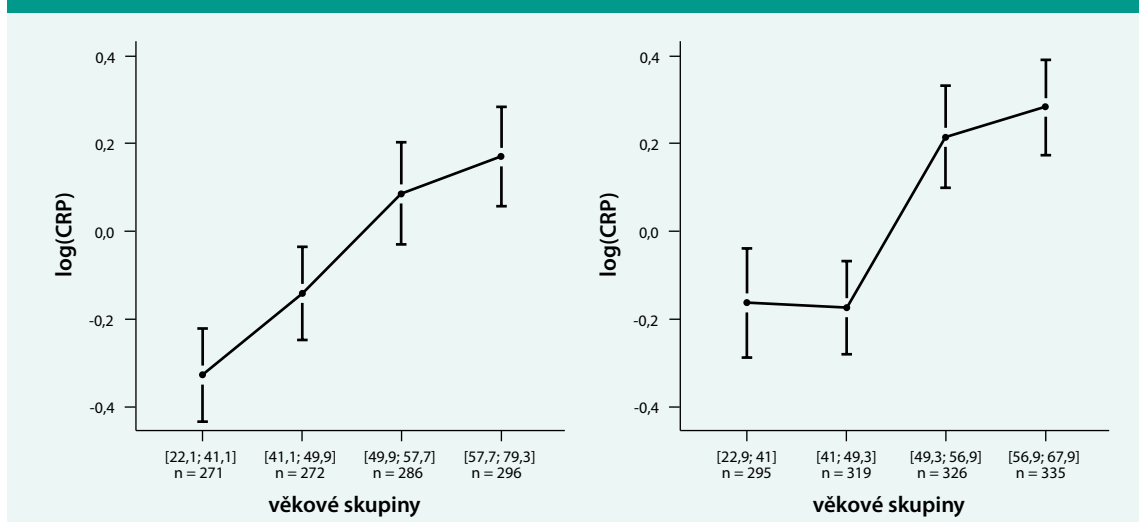
Proč k tomuto posunu došlo? Jednou z příčin je metodická nepřesnost daná vlastním měřením složení stravy. Data o výživě jsou získána z dietních dotazníků, a to jednodenním (případně 3denním) záznamem nebo tzv. dietní frekvencí. Z našich zkušeností jsou jednodenní záznamy poměrně přesné, ale tento záznam nemusí být typický, vzhledem k rozdílu všedního a víkendového dne. Třídenní záznam (s jedním víkendovým dnem) by mohl být typičtější, ale zjistili jsme, že velká část vyšetřovaných osob si nepamatuje, co konzumovali před 2 nebo 3 dny [11]. Druhou příčinou je změna výživových zvyklostí během posledních let, což podstatně ovlivňuje vztah k dlouhodobě sledovanému výskytu klinických komplikací. Porovnávali jsme hodnoty několika rizikových faktorů kardiovaskulárních nemocí u mužů přijatých na koronární jednotku IKEM v Praze v letech 1980, 2000 a 2008 s hodnotami párově vybraných jedinců z rozsáhlé WHO studie Czech MONICA (kontrolní skupina). Jestliže koncentrace non-HDL-cholesterolu paci-

entů s infarktem v roce 1980 byla o 14 % vyšší než průměr u kontrol, pak v roce 2000 byl tento rozdíl jen nesignifikantně vyšší a v roce 2008 dokonce nesignifikantně nižší. Naopak koncentrace protektivní frakce HDL (HDL-cholesterol) byla v roce 1980 u pacientů stejná s kontrolami, v roce 2000 jen mírně snižena a v roce 2008 od 20 % nižší. Obvod pasu pak byl u pacientů v roce 1980 velmi podobný, ale podstatně se zvýšil do roku 2000 a až o 6 % v roce 2008 [12]. Jestliže se tedy relativní riziko aterogenních lipoproteinů postupně snižovalo (kromě dietní změny také rostoucím podílem pacientů léčených statiny), pak množství tělesného tuku se u pacientů s infarktem postupně zvyšovalo v porovnání s kontrolní populací a následně se měnila citlivost k inzulinu a snižovala se koncentrace protektivních částic HDL. Tyto posuny pochopitelně v průběhu těchto 30 let ovlivňují riziko infarktu myokardu. Tato data reflektují zejména změnu složení diety, tj. nahrazení části živočišných tuků sacharidy nebo tuky rostlinnými. Zvýšený příjem energie vedl ke zmnoužení tělesného tuku, spojeným s rostoucím vlivem inzulinové rezistence. Tím se blížíme k problematice zánětu.

Inflamační teorie

První experimentální důkaz inflamační teorie aterosklerózy se objevil v 80. letech minulého století zásluhou rozvoje molekulární biologie. Opakovaně bylo prokázáno, že pěnivé buňky, které jsou typické již v počáteční fázi vývoje aterogenního plátu, nejsou původně buňky hladkého svalstva, jak patologové již téměř 100 let předpokládali. Tento předpoklad byl založen právě na morfologickém pozorování, podle kterého buňky hladkého svalstva reagují na jakýkoli aterogenní podnět migrací z medie arteriální stěny do subendoteliálního prostoru, v němž se právě pěnivé buňky objevují. Předpokládalo se, že tento proces je jistou ochranou cévy proti

Graf 1. Vliv věku na koncentraci hsCRP v reprezentativním souboru české populace ve věku 65–64 let (WHO Project post-MONICA 2007, n = 2 867)



aterogennímu vlivu. Molekulární biologie ale s použitím specifických protilátek dokázala správně identifikovat původ pěnových buněk. Jsou to zejména monocyty, které vstoupily do arteriální stěny z lumen cévy. Dnes víme, že se monocyty či makrofágy fyziologicky zachytí na endotelu arterie specifickými vazbami. Po průniku endotelem tyto buňky migrují a pomocí specifických receptorů odstraňují nadbytečné množství LDL částic, které dodávají buňkám hladkého svalu ve stěně cévy potřebný cholesterol. Je-li ale intravazální koncentrace LDL částic nesoucích cholesterol z jater do extrahepatálních buněk příliš vysoká, je jejich transport do arteriální stěny akcelerován, zatímco transport nadbytečných částic selhává. Kromě těchto převážně experimentálních dat byla tato inflamační teorie potvrzena rozsáhlou epidemiologickou studií [13]. Ridker na tomto rozsáhlém materiálu (dlouhodobé sledování více než 30 000 zdravotníků) prokázal, že jedinci s vyšší hodnotou hsCRP (hsCRP – koncentrace pod hladinou normální koncentrace používané v pro identifikaci probíhajícího zánětu) v krvi (> 3 mg/dl) mají výrazně vyšší pravděpodobnost vzniku infarktu myokardu než osoby s nízkou hodnotou hsCRP (< 1 mg/dl) v krvi. Jedinci s vyšší hodnotou hsCRP měli dále vyšší pravděpodobnost vzniku aterosklerózy v periferních tepnách [13].

Navíc Ross zcela nezávisle prokázal [14], že destabilizace endotelu vede ke stimulaci pronikání monocytů/makrofágů do arteriální stěny, a tedy k akceleraci zánětlivého procesu. Zdálo se tedy, že tento proinflamační stav (nazývaný také chronické low-grade inflammation) se dá dobře individuálně identifikovat právě stanovením koncentrace CRP stanoveného novou vysoce senzitivní metodou. Situace ale není zdaleka tak jednoduchá, neboť takto nízké koncentrace CRP souvisejí s řadou dalších rizikových faktorů kardiiovaskulárních nemocí. Ukázali jsme [15] na velkém souboru více než 3 000 jedinců reprezentativního vzorku české populace v 9 okresech (post WHO MONICA Project), že koncentrace hsCRP vzrůstá u mužů i u žen (graf 1) s věkem. S věkem vzrůstá

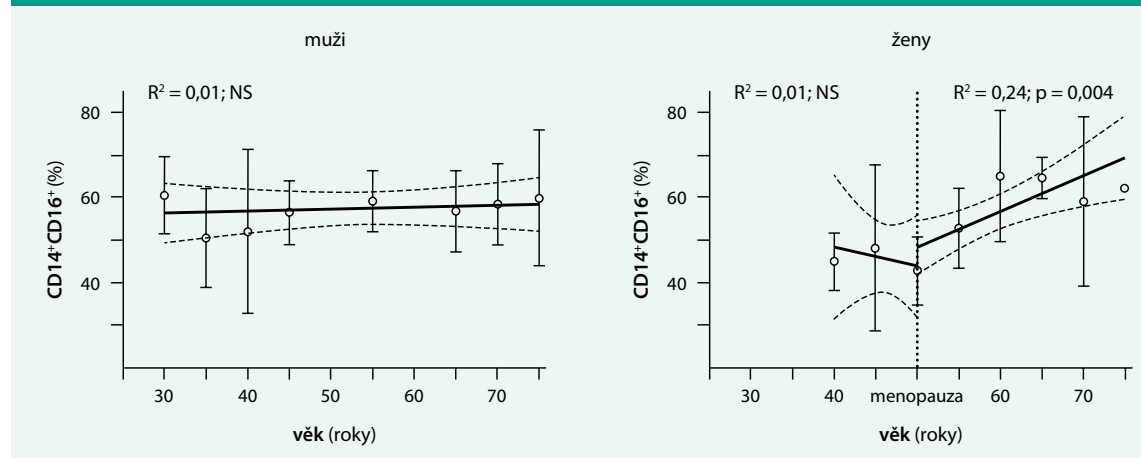
tato koncentrace u mužů spojitě, ale u žen se až do období menopauzy mění nepatrně a poté s věkem výrazně roste.

V literatuře se objevilo také alternativní vysvětlení inflamačního mechanismu aterogeneze související s virovou či bakteriální infekcí. Tento koncept je založen na experimentech s herpes virem kuřat [16]. Navíc zvýšené koncentrace protilátek proti *Chlamydia pneumoniae* [17] či cytomegalovirus [18] byly také nalezeny v aterosklerotických plátech. Je ale nepravděpodobné, že přímý vliv infekce je hlavním aterogenním vlivem. Na průběhu změny mortality na infarkt myokardu v české populaci jsme ukázali, že k výraznému poklesu mortality na počátku 90. let 20. století došlo v souvislosti s výraznou změnou koncentrace aterogenních LDL částic, ale tato změna nesouvisela s žádnou změnou výskytu infekčních nemocí [19].

Určitým přelomem byla práce publikovaná na přelomu tisíciletí, která ukázala, že výrazné zmnožení tělesného tuku spojené se zhoršenou citlivostí k inzulinu vede k výraznému zvýšení obsahu makrofágů v tukové tkáni [20]. Není ale dosud jasné, jak makrofágy v tukové tkáni ovlivňují proces aterosklerózy ve stěně cévy. Jistý nepřímý vliv představuje již prokázanou tvorbu proinflamačních cytokinů v tukové tkáni a tato změna prostřednictvím zvýšené koncentrace ovlivňuje adhezi monocytů v endotelu a rovněž chování monocytů/makrofágů přítomných ve stěně cévy. Druhou alternativou je přímé působení makrofágů, které jsou po kratší době zachyceny v tukové tkáni opět uvolněny do cirkulace a vstupují do arteriální stěny [21]. Takto modifikované makrofágy mají aterogenní charakter a jejich chování v arteriální stěně je výrazně ovlivněno. Mohou mít podstatně vyšší možnost se v mezibuněčných prostorech arterie zachytit permanentně za vzniku rezidenčních makrofágů a následně pěnových buněk.

Z řady přehledných článků publikovaných v odborné literatuře se může zdát celá situace poměrně jasná. Na základě rozdílného metabolismu monocytů/makrofágů nebo rozdílné přítomnosti specifických povrchových

Obr. 2. Vliv věku na poměr proinflamačních makrofágů ve viscerální tukové tkáni živých dárců ledvín (n = 52)



vých receptorů se liší proinflamační monocyty/makrofágy, označené jako M1, od antiinflamačního fenotypu označovaného jako M2. Při podrobnější metodické zkušenosti je ale zřejmé, že toto dělení není opřeno o skutečnou charakteristiku fenotypu. Naše vlastní zkušenosti ukazují, že např. fenotyp cirkulujících monocytů se výrazně liší od fenotypu buněk lokalizovaných v mezibuněčných prostorech tukové tkáně.

Naše studie v posledních letech byly umožněny rozsáhlým transplantačním programem v IKEM v Praze a zvýšeným počtem příbuzenských transplantací ledvin. Od těchto živých dárců ledvin získáváme tukovou tkáň z očištěných ledvin určených k transplantaci a v laboratoři je tato tkáň k dispozici během 20 min. Rezidenční makrofágy, které z této tkáně izolujeme, mají z převážné míry proinflamační charakter a jejich fenotyp je dán koexpresí receptoru CD16 (navíc k CD14 receptoru exprimovanému makrofágy obecně) na těchto buňkách současně s výrazně vysokou expresí scavengerového receptoru CD36 (CD36⁺⁺⁺) [22]. Opačným pólem jsou makrofágy neexprimující CD16 se slabou expresí CD36 receptoru. Tento fenotyp makrofágů v tukové tkáni považujeme za antiinflamační.

Ukázali jsme, že proporce proinflamačních makrofágů (CD14⁺CD16⁺CD36⁺⁺⁺) vzrůstá s rostoucí BMI [23] jak u mužů, tak u žen. To potvrzuje dřívější nálezy v souvislosti proinflamačního stavu měřeného koncentrací hsCRP se vzrůstajícím podílem tělesného tuku. Vliv věku se na proporce proinflamačních makrofágů projevuje sexuálně rozdílně. Je mírně spojitě rostoucí s věkem u mužů, kdežto u žen výrazně stoupá po menopauze (obr. 2) [24]. Tento nálezy je v naprostém souladu s průběhem vztahu věku a koncentrace hsCRP. Překvapivý vztah proporce proinflamačních makrofágů se ukázal při analýze vztahu ke koncentraci aterogenního cholesterolu. Jejich proporce ve viscerální tukové tkáni velmi úzce souvisí s koncentrací non-HDL-cholesterolu v celém souboru živých dárců ledvin [25]. Z tohoto výsledku je tedy zřejmé, že negativní vliv zvýšené koncentrace aterogenních lipoproteinů v cirkulaci na rozvoj aterogeneze působí synergně s proinflamačním vlivem makrofágů v tukové tkáni. Platí tedy obecně, že rizikové faktory kardiovaskulárních nemocí – věk, nadbytek tělesného tuku a hypercholesterolemie – souvisejí se zvýšenou proporcí proinflamačních makrofágů v tukové tkáni [26]. Navíc jsme v této práci ukázali, že terapie hypercholesterolemie statiny proporce proinflamačních makrofágů v tuku snižuje, což je v souladu s epidemiologickým nálezem snížené koncentrace hsCRP po terapii statiny [27].

Závěr

Je tedy zřejmé, že proinflamační stav organismu stimuluje vznik aterosklerózy synergně s hypercholesterolemií, věkem a sníženou citlivostí k inzulinu.

Podpořeno z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR s reg. č. 17–28103A. Veškerá práva podle předpisů na ochranu duševního vlastnictví jsou vyhrazena.

Literatura

1. Anitschkow N, Chalataw S. Ueber experimentelle Cholesterinsteatose und ihre Bedeutung fuer die Entstehung einiger pathologischer Prozesse. Zentrbl Allg Pathol Anat 1913; 24: 1–9.
2. Keys A. Human atherosclerosis and the diet. Circulation 1952; 5(1): 115–118.
3. Keys A, Aravanis C, Blackburn HW et al. Epidemiological studies related to coronary heart disease: characteristics of men aged 40–59 in seven countries. Acta Med Scand Suppl 1966; 460: 1–392.
4. Havel RJ. Functional activities of hepatic lipoprotein receptors. Annu Rev Physiol 1986; 48: 119–134. Dostupné z DOI: <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.ph.48.030186.001003>.
5. Goldstein JL, Brown MS. Familial hypercholesterolemia: identification of a defect in the regulation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase activity associated with overproduction of cholesterol. Proc Natl Acad Sci USA 1973; 70(10): 2804–2808.
6. Kato H, Tillotson J, Nichaman MZ et al. Epidemiologic studies of coronary heart disease and stroke in Japanese men living in Japan, Hawaii and California. Am J Epidemiol 1973; 97(6): 372–385.
7. Pitha J, Kralova Lesna I, Stavek P et al. Effect of exercise on markers of vascular health in renal transplant recipients. Physiol Res 2015; 64(6): 945–949.
8. Esrey KL, Joseph L, Grover SA. Relationship between dietary intake and coronary heart disease mortality: lipid research clinics prevalence follow-up study. J Clin Epidemiol 1996; 49(2): 211–216.
9. Hu FB, Rimm EB, Stampfer MJ et al. Prospective study of major dietary patterns and risk of coronary heart disease in men. Am J Clin Nutr 2000; 72(4): 912–921. Dostupné z DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/ajcn/72.4.912>.
10. Kromhout D, de Lezenne Coulander C, Obermann-de Boer GL et al. Changes in food and nutrient intake in middle-aged men from 1960 to 1985 (the Zutphen Study). Am J Clin Nutr 1990; 51(1): 123–129. Dostupné z DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/ajcn/51.1.123>.
11. Suchanek P, Poledne R, Hubacek JA. Dietary intake reports fidelity – fact or fiction? Neuro Endocrinol Lett 2011; 32(Suppl 2): 29–31.
12. Cífkova R, Skodova Z, Bruthans J et al. Longitudinal trends in major cardiovascular risk factors in the Czech population between 1985 and 2007/8. Czech MONICA and Czech post-MONICA. Atherosclerosis 2010; 211(2): 676–681. Dostupné z DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2010.04.007>.
13. Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ et al. Plasma concentration of C-reactive protein and risk of developing peripheral vascular disease. Circulation 1998; 97(5): 425–428.
14. Ross R. Atherosclerosis – an inflammatory disease. N Engl J Med 1999; 340: 115–126. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJM199901143400207>.
15. Poledne R, Valenta Z, Pitha J. CRP – a marker of a pro-inflammatory state and cardiovascular risk. Vnitř Lék 2007; 53(4): 391–395.
16. Fabricant CG, Fabricant J, Litrenta MM et al. Virus-induced atherosclerosis. J Exp Med 1978; 148(1): 335–340.
17. Farsak B, Yildirim A, Akyon Y et al. Detection of Chlamydia pneumoniae and Helicobacter pylori DNA in human atherosclerotic plaques by PCR. J Clin Microbiol 2000; 38(12): 4408–4411.
18. Altannavch TS, Roubalova K, Kucera P et al. Effect of human cytomegalovirus and glucose on adhesion molecules expression in cultured human endothelial cells. Acta Virol 2002; 46(3): 183–186.
19. Dvorakova A, Poledne R. The incidence of infectious diseases and changes in the mortality of atherosclerosis-related complications in the Czech population over the past two decades. Eur J Epidemiol 2004; 19(7): 707–710.
20. Weisberg SP, McCann D, Desai M et al. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. J Clin Invest 2003; 112(12): 1796–1808. Dostupné z DOI: <http://dx.doi.org/10.1172/JCI19246>.
21. Cejkova S, Kralova Lesna I, Fronek J et al. Pro-inflammatory gene expression in adipose tissue of patients with atherosclerosis. Physiol Res 2017; 66(4): 633–640.
22. Kralova Lesna I, Kralova A, Cejkova S et al. Characterisation and comparison of adipose tissue macrophages from human subcutane-

ous, visceral and perivascular adipose tissue. J Transl Med 2016; 14(1): 208. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1186/s12967-016-0962-1>>.

23. Lesna IK, Cejkova S, Kralova A et al. Human adipose tissue accumulation is associated with pro-inflammatory changes in subcutaneous rather than visceral adipose tissue. Nutr Diabetes 2017; 7(4): e264. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/nutd.2017.15>>.

24. Kralova Lesna I, Poledne R, Fronek J et al. Macrophage subsets in the adipose tissue could be modified by sex and the reproductive age of women. Atherosclerosis 2015; 241(1): 255–258. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2015.03.018>>.

25. Poledne R, Kralova Lesna I, Kralova A et al. The relationship between non-HDL cholesterol and macrophage phenotypes in human adipose tissue. J Lipid Res 2016; 57(10): 1899–1905. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1194/jlr.P068015>>.

26. Kralova Lesna I, Petras M, Cejkova S et al. Cardiovascular disease predictors and adipose tissue macrophage polarization: Is there a link? Eur J Prev Cardiol 2018; 25(3): 328–334. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1177/2047487317743355>>.

27. Ridker PM, MacFadyen J, Libby P et al. Relation of baseline high-sensitivity C-reactive protein level to cardiovascular outcomes with rosuvastatin in the Justification for Use of statins in Prevention: an Intervention Trial Evaluating Rosuvastatin (JUPITER). Am J Cardiol 2010; 106(2): 204–209. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.amjcard.2010.03.018>>.

prof. Ing. Rudolf Poledne, CSc.

✉ rudolf.poledne@ikem.cz

Centrum experimentální medicíny, Laboratoř pro výzkum aterosklerózy IKEM, Praha

www.ikem.cz

Doručeno do redakce 22. 10. 2018

Přijato po recenzi 15. 11. 2018