

ATEROGÉNNE A ANTIATEROGÉNNE LIPOPROTEÍNY PLAZMY MODULUJÚ SEKRÉCIU PROSTANOIDOV ENDOTELOVOU BUNKOU IN VITRO

ORAVEC S., ¹DEMUTH K., MYARA I., ²HORNYCH A., BALAŽOVJECH I.

ATHEROGENIC AND ANTIATHEROGENIC PLASMA LIPOPROTEINS ARE ABLE TO MODERATE ENDOTHELIAL CELL PROSTANOID SECRETION IN VITRO

The authors present the evidence of atherogenic properties of VLDL and LDL potentiation on the model of endothelial cells-human umbilical vein endothelial cells, by preferable stimulation of the endothelial cell to thromboxane A_2 production at in vitro conditions by atherogenic lipoproteins. The vasoconstrictive, thrombogenic and atherogenic effects of TXA_2 are exerted on the vessel in this way. The ratio prostacycline/thromboxane, decisive for the maintenance of vascular homeostasis, is less than 1, this means the beneficial effect of prostacycline can not be applied. Protective, antiatherogenic effect of HDL and its subfractions HDL_2 and HDL_3 /predominantly through their function in the reverse cholesterol transport from the periphery to the liver, antioxidative influence on LDL, as far as antiaggregation and fibrinolytic effects of HDL/is multiplied by the fact that HDL preferably stimulates the secretion of prostacycline by the endothelial cell. The ratio prostacycline/thromboxane A_2 is higher than 1, that means beneficial vasodilative, antiaggregation and antiatherogenic effect of prostacycline on the vessel wall predominate. Quantitative evaluation of antiatherogenic effects of HDL subfractions (HDL_2 and HDL_3) revealed more significant antiatherogenic effect in HDL_2 subfraction-in the sense of prostacycline secretion stimulation and exertion of its beneficial effects on the vessel. (Fig. 5, Ref. 33.)

Key words:

Na modeli endotelových buniek – human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) autori predkladajú dôkaz potencionovania aterogénnych charakteristík VLDL a LDL tým, že v podmienkach in vitro aterogénne lipoproteíny stimulujú endotelovú bunku preferenčne k sekrécii tromboxánu A_2 . Na cievu sa tak uplatňujú jeho vazokonstrikčné, trombogénne a aterogénne vlastnosti. Pomer prostacyklín/tromboxán A_2 , ktorý je rozhodujúci pre udržovanie cievej homeostázy je <1 , čím sa benefičný účinok prostacyklínu nemôže uplatniť. Protektívny, antiaterogénny účinok HDL a jeho subfrakcií HDL_2 a HDL_3 (predovšetkým ich úlohou v reverznom transporte cholesterolu z periférie do heparu, anti-oxidacným pôsobením na LDL, ako aj antiagregačnými a fibrinolytickými účinkami HDL) sa ešte znásobuje tým, že HDL preferenčne stimuluje sekréciu prostacyklínu endotelovou bunkou. Pomer prostacyklín/tromboxán $A_2 >1$, takže prevláda benefičný vazodilatačný, antiagregačný a antiaterogénny účinok prostacyklínu na cievnú stenu. Pri kvantitatívnom hodnotení antiaterogénneho účinku subfrakcií HDL (HDL_2 a HDL_3) autori štúdie zistili výraznejší antiaterogénny účinok – v zmysle stimulácie sekrécie prostacyklínu a uplatnenia sa jeho benefičného pôsobenia na cievu – pri subfrakcii HDL_2 . (Obr. 5, lit. 33.)

Kľúčové slová:

Bratisl Lek Listy 1998; 99: 525–530

Bratisl. lek. Listy, 99, 1998, č. 10, s. 525–530

II. interná klinika Lekárskej fakulty Univerzity Komenského v Bratislave, ¹Laboratoire de Biochimie Appliquée Faculté de Pharmacie Paris, Chatenay-Malabry a Laboratoire de Biochimie Hôpital Broussais v Paríži a ²Hôpital Broussais v Paríži
 IInd Internal Department, Medical Faculty, Comenius University, Bratislava, ¹Laboratoire de Biochimie Appliquée Faculté de Pharmacie Paris, Chatenay-Malabry a Laboratoire de Biochimie Hôpital Broussais, Paris, and ²Hôpital Broussais, Paris
Address for correspondence: S. Oravec, MD, II. interná klinika LFUK, Mickiewiczova 13, 813 9 Bratislava, Slovakia.

Lipoproteíny ľudskej plazmy tvoria heterogénnu zmes makromolekulárnych lipidovo-proteínových komplexov, ktoré sa popri odlišných fyzikálno-chemických a imunochemických vlastnostiach odlišujú rozdielnou biologickou úlohou v organizme a kvalitatívne rozdielnou účasťou v aterogéneze.

Kým lipoproteíny bohaté na cholesterol (LDL) a lipoproteíny bohaté na triacylglyceroly (VLDL) urýchľujú aterosklerotické degeneratívne poškodenie ciev (aterogénne lipoproteíny) (Austin a spol., 1990), iná časť lipoproteínového spektra plazmy (HDL) s vysokým obsahom fosfolipidov a proteínu má opačné, protektívne, antiaterogénne vlastnosti a tlmí rozvoj aterogénezy (antiaterogénne lipoproteíny) (Assmann, 1993).

Jedným z cieľových miest, kde sa prejavuje modulujúci účinok lipoproteínov plazmy na metabolizmus, je endotelová bunka. Aktívne sa zúčastňuje na udržovaní homeostázy nielen aktívnou reguláciou koncentrácie lipoproteínov a ich štruktúrnych súčastí, čím okrem iného účinne reguluje metabolizmus cholesterolu, fosfolipidov a proteínov, ale tiež uvoľňuje do cievného lúmenu početné vazoaktívne biologicky vysokoúčinné faktory, ktoré aktuálne ovplyvňujú tonus cievy, adhezivnosť trombocytov, monocytov, proliferáciu hladkosvalových buniek, priepustnosť cievnej steny a podobne (Gryglewski a spol., 1988; Boulanger a Vanhoutte, 1994). Medzi tieto endotelové pôsobky zaraďujeme aj prostaglandíny. Je to predovšetkým dominantne endotelovou bunkou syntetizovaný prostacyklín (PGI_2) s jeho výrazným vazodilatačným, antiagregačným a antiaterogénnym (Vane, 1983) účinkom a tromboxán A_2 (TXA_2), ktorý svojím silným vazokonstrikčným, agregáčným a aterogénnym pôsobením antagonizuje PGI_2 (Whittle a Moncada, 1983; Makheja, 1992).

LDL a menovite ich oxidovaná forma (oxidLDL) (Jürgens, 1989; Rengström a spol., 1992; Tribble a spol., 1992) porušujú integritu a funkciu cievnej steny (cytotoxický účinok LDL a oxidLDL). Navyše aterogénne charakteristiky LDL sa potencujú tým, že LDL stimuluje sekréciu TXA_2 a potláčajú sekréciu PGI_2 v endotelovej bunke (Weiser a spol., 1993). Vytvára sa tak nepriaznivý pomer medzi koncentráciou PGI_2 a TXA_2 v cievnom lúmene a zhoršuje sa cievná homeostáza (Chernyshov a spol., 1995). Zmenená, či porušená funkcia endotelu sa môže stať prvotnou udalosťou, ktorá neskôr vedie k rozvoju degeneratívnych aterosklerotických zmien v cieve (Lüscher, 1996).

Pilotné práce informujú o stimujúcom účinku HDL na endotelovú sekréciu PGI_2 (Fleisher a spol., 1982), čím sa môže znásobovať antiaterogénny, protektívny účinok HDL na cievnú stenu. Tieto zistenia však vyžadujú ďalšie verifikácie, predovšetkým štúdiami na ľudských endotelových bunkách.

Cieľom našej práce je na modeli endotelovej bunky v podmienkach *in vitro* analyzovať účinok lipoproteínov plazmy na sekréciu PGI_2 a TXA_2 endotelovou bunkou a posúdiť, ako aterogénne (LDL, VLDL) a antiaterogénne lipoproteíny (HDL, HDL_2 , HDL_3) modulujú jej sekrečné spektrum.

Materiál a metódy

Izolácia endotelových buniek

Na izoláciu endotelových buniek sa použila modifikovaná (Oravec a spol., 1995) metóda Jaffého a spol. (1973). Endotelové bunky sa získali z v. umbilicis pupočníkov zdravých novorodencov jej natrávením 0,1 % kolagenázou. Takto získané endotelové bunky – human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) sa kultivovali v kultivačnom médiu (DMEM Dulbecco), ktoré bolo obohatené o 20 % teplom aktivované telacie sérum, v prítomnosti PNC 100 U/ml a SMC 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Na ich kultiváciu sa používali želatínované kultivačné nádoby s plochou 25 cm^2 (Costar). Identita HUVEC sa zisťovala jednak morfológicky, podľa ich charakteristického polygonálneho tvaru a dôkazom prítomnosti von Willebrandovho faktora (vWF) lokalizovaného v cytosóle buniek. Použilo sa pritom špecifické králičie antisérum proti vWF (Dakopats Denmark).

Po dosiahnutí konfluentného štádia sa HUVEC uvoľnili 0,05 % trypsinom a preniesli do 48-komôrkových inkubačných plat-

ní, v ktorých sa urobila vlastná inkubácia lipoproteínov s HUVEC. Pre inkubáciu s lipoproteínmi sa použili HUVEC získané z prvého pasážovania. Po ukončení inkubácie sa HUVEC spočítali v Bürkerovej komôrke, osobitne pre každú jednotlivú koncentráciu HDL-proteínu.

Izolácia lipoproteínov

Lipoproteíny sa izolovali z plazmy normolipemických zdravých darcov (140 dobrovoľníkov), bez klinicky a biochemicky manifestných známk ochorenia vnútorných orgánov a kardiovaskulárneho systému. Krv sa odobrala punkciou v cubiti nalačno po 12-hodinovom lačnení do skúmaviek s EDTA (1 mg/ml) a plazma sa oddelila pri 4 °C nízkoobrátkovou centrifugáciou počas 15 minút.

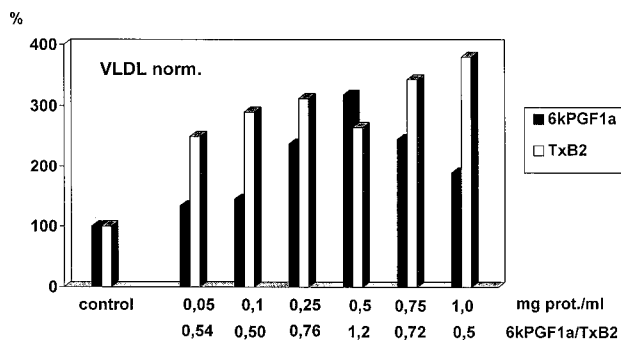
Na izoláciu lipoproteínov sa použila metóda sekvenčnej ultracentrifugácie. Pracovalo sa s ultracentrifúgou Beckman L 90 (Beckman Instruments Fullerton Ca). Pri prvom točení počas 24 hodín (pri 15 °C, 45000 rpm, rotor 50,2 Ti) sa pri hustote prostredia 1,006 g/l z plazmy izolovali VLDL, ďalšou 24-hodinovou ultracentrifugáciou infranatanu, ktorého hustota sa nastavila bromidom draselným (KBr) na hodnotu $d=1,063$ g/ml, sa získala LDL-frakcia.

Pri získavaní HDL a subfrakcií HDL sa postup modifikoval tak, že sa hustota plazmy najprv bromidom draselným upravila na hustotu $d=1,063$ g/ml a po 48-hodinovej ultracentrifugácii za vyššie uvedených podmienok sa z plazmy odstránili VLDL, IDL a LDL. Ultracentrifugáciou zostatkového infranatanu sa pri hustote prostredia $d=1,21$ g/ml počas 48 hodín izolovala (a) celá frakcia HDL, alebo (b) nastavením hustoty prostredia na $d=1,125$ g/ml a točením počas 24 hodín sa získala najprv frakcia HDL_2 a po ďalšom 48-hodinovom točení pri hustote prostredia $d=1,21$ g/ml sa izolovali HDL_3 . Získané frakcie lipoproteínov sa dialyzovali oproti 0,01 M TRIS-HCl s 1 mM EDTA pH 7,4 (24 h 4 °C). Skúška čistoty izolovaných lipoproteínov elektroforézou na agarovom nosiči vylúčila ich vzájomné znečistenie. Stanovenie proteínového obsahu vo frakciách lipoproteínov sa urobilo metódou podľa Petersona a spol. (1977), pričom sa ako štandard použil hovädzí sérový albumín.

Inkubácia HUVEC s lipoproteínmi

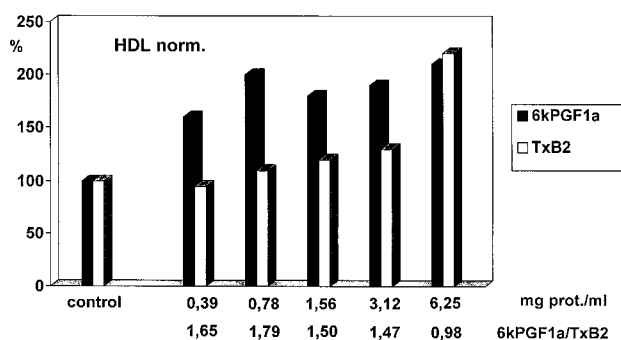
Inkubácia HUVEC s lipoproteínmi sa robila na 48-komôrkových inkubačných platniach po tom, čo HUVEC dosiahli konfluentné štádium. Koncentrácie lipoproteínov, ktoré sa volili tak, aby pokryli pásmo normálnej fyziologickej a patologickej koncentrácie, sa vyjadrili v mg HDL proteínu/ml a boli v rozpätí 0,05–1,0 mg proteínu/ml pre VLDL a LDL a v rozpätí koncentrácií 0,19–6,25 mg proteínu/ml pre HDL, HDL_2 a HDL_3 . Po 4 h pri 37 °C v 5 % CO_2 atmosfére sa inkubácia HUVEC s lipoproteínmi ukončila a inkubačné médium sa odsalo do skúmaviek predchladených v ľadovom kúpeli a pridalo sa 0,1 mg indometacínu a 2 mg EDTA/ml média. Centrifugáciou média pri 3000 rpm pri 4 °C počas 10 min sa z média odstránil bunkový detritus, príp. endotelové bunky. Nakoniec sa supernatant odsal a uskladnil pri -20 °C do doby analýzy prostaglandínov.

Životnosť HUVEC sa posudzovala morfológicky v optickom mikroskope s fázovým kontrastom a vylúčili sa znaky poškodenia buniek, príp. ich uhynutie. Po ukončení inkubácie sa endotelové bunky pre jednotlivé koncentrácie spočítali v Bürkerovej



Obr. 1. Sekrécia prostanooidov endotelovými bunkami stimulovaná VLDL.

Fig. 1. Endothelial cells prostanooid secretion stimulated by VLDL.



Obr. 3. Sekrécia prostanooidov endotelovými bunkami stimulovaná HDL.

Fig. 3. Endothelial cells prostanooid secretion stimulated by HDL.

komôrke. Ich počet sa použil na vyjadrenie konečnej koncentrácie prostaglandínov.

Analýza prostaglandínov

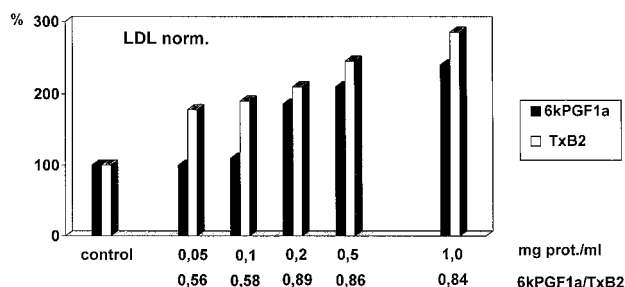
Prostaglandíny 6-keto-PGF_{1α} (stabilný metabolit prostacyklínu, TXB₂ (stabilný metabolit TXA₂) sa analyzovali metódou RIA (Richalet a spol., 1991). Najprv sa však urobila extrakcia stĺpcovou chromatografiou na SEP-PAK C18 po predchádzajúcom nastavení pH supernatantu 1N HCl na hodnotu 3,5 a prídanie 3H-6-keto-PF_{1α} pre výpočet spätného zisku. Výsledky sa vyjadrili koncentráciou PG v pg/100 000 buniek/4 h.

Štatistické vyhodnotenie

Štatistické vyhodnotenie sa robilo párovým t-testom, štatistická významnosť sa analyzovala variačným testom a výsledky sa vyjadrili v priemerných hodnotách ±SEM.

Výsledky

Bazálna sekrecia prostaglandínov endotelovou bunkou
 6-keto-PGF_{1α} 1029±907 pg/100 000 buniek/4 h
 TXB₂ 487±144 pg/100 000 buniek/4 h



Obr. 2. Sekrécia prostanooidov endotelovými bunkami stimulovaná LDL.

Fig. 2. Endothelial cells prostanooid secretion stimulated by LDL.

VLDL

Hodnoty narastajúcej koncentrácie 6-keto-PGF_{1α} a TXB₂ endotelovej proveniencie, ako výsledok dávkovo závislej odpovede zvyšujúcej sa koncentrácie proteínu VLDL na sekreciu prostanooidov endotelovou bunkou je vyjadrený v percentách nárastu oproti kontrolnej sekrecii (obr. 1). VLDL dávkovo závislým spôsobom stimulujú sekreciu oboch prostanooidov. Sekrécia TXA₂ prevláda nad sekreciou PGI₂, preto pomer 6-keto-PGF_{1α}/TXB₂<1 a v cievnom lúмене sa neuplatňuje benefičné pôsobenie PGI₂ na cievnú stenu. Prevládajú aterogénne charakteristiky TXA₂, čím sa aterogénne pôsobenie VLDL ešte zvyrazňuje.

LDL

Pôsobenie narastajúcej koncentrácie LDL na sekreciu oboch prostanooidov endotelovou bunkou je vyjadrený v % náraste oproti kontrole (obr. 2). Zvyšujúca sa koncentrácia LDL vyjadrená v mg proteínu/ml v intervale koncentrácií 0,05–1,0 mg proteínu/ml dávkovo závislým spôsobom stimuluje tvorbu PGI₂ aj TXA₂, pričom v sekrecii (obdobne ako pri VLDL) prevláda sekrecia.

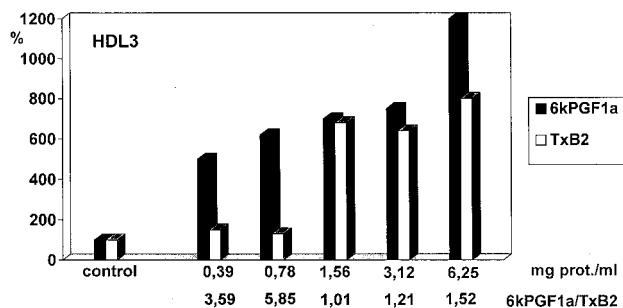
TXA₂ a pomer 6-keto-PGF_{1α}/TXB₂<1. V lúмене cievy prevládajú aterogénne charakteristiky TXA₂, čím sa aterogénne vlastnosti LDL ešte viac potencujú.

Celkové HDL

Účinok vzrastajúcej koncentrácie celkového HDL na sekreciu 6-keto-PGF_{1α} a TXB₂ endotelovými bunkami je vyjadrený v % náraste oproti kontrolnej sekrecii (obr. 3). Celkové HDL progresívne stimulujú sekreciu 6-keto-PGF_{1α} s maximálnym nárastom 224 % pri najvyššej koncentrácii, ktorá je sprevádzaná moderovaným vzrastom TXB₂. Pomer 6-keto-PGF_{1α}/TXB₂ kolíše medzi 1,4 až 1,79. Iba pri najvyššej koncentrácii HDL (6,25 mg prot/ml) narastá TXB₂ na hodnoty 6-keto-PGF_{1α} a pomer oboch prostaglandínov sa znižuje na hodnotu blízku 1,0.

HDL₃

Vplyv narastajúcej koncentrácie HDL₃ na 6-keto-PGF_{1α} a TXB₂ vyjadrený v % je znázornený na obrázku 4. HDL₃ majú dávkovo závislý stimulačný účinok na sekreciu PGI₂. Nízke koncentrácie HDL₃ proteínu (0,39 a 0,78) sú bez efektu na sekreciu TXA₂, a preto pomer 6-keto-PGF_{1α}/TXB₂ narastá k hodnotám 3,39–5,85. Vyššie koncentrácie HDL₃ (1,56–6,25 mg prot/ml) stimulujú súčasne



Obr. 4. Sekrécia prostanooidov endotelovými bunkami stimulovaná HDL₃.

Fig. 4. Endothelial cells prostanooid secretion stimulated by HDL₃.

syntézu 6-keto-PGF_{1α} aj TXB₂. Následkom toho pri vyšších koncentráciách HDL₃ pomer prostacyklín/tromboxán A₂ klesá na hodnotu 1,0.

HDL₂

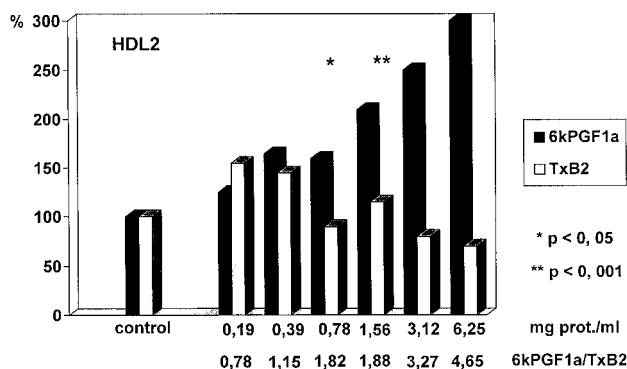
Účinok narastajúcej koncentrácie HDL₂ na syntézu 6-keto-PGF_{1α} a TXB₂ vyjadrený v % je znázornený na obrázku 5. HDL₂ má dávkovo závislý stimulačný účinok na sekréciu PGI₂ súčasne s obrazom dávkovo inhibičného účinku na sekréciu TXA₂, pri zvyšujúcej sa koncentracii HDL₂ proteínu. Najvyššia sekrécia PGI₂ a najvýraznejšia inhibícia sekrécie TXA₂ sa zaznamenala pri koncentracii HDL₂ proteínu 6,25 mg/ml. Pomer 6-keto-PGF_{1α}/TXB₂ progresívne narastá a dosahuje pri najvyššej koncentrácii proteínu hodnotu 4,65.

Životnosť buniek

Životnosť buniek po inkubácii s lipoproteínmi sa verifikovala opticky kontrastnou mikroskopiou. Nezistili sa žiadne známky morfológického poškodenia buniek, či poškodenia bunkovej monovrstvy, alebo uhynutie buniek. Optický obraz bunkovej monovrstvy a morfológického tvaru buniek po inkubácii s lipoproteínmi sa oproti obrazu buniek a počtu buniek pred inkubáciou nezmenil, morfológicky bolo možné pozorovať konfluentné polygonálne bunky bez známok ich poškodenia.

Diskusia

Lipoproteíny tvoria heterogénnu zmes lipidovo-proteínových makromolekulárných komplexov, ktoré sa okrem rozdielnych fyzikálno-chemických a imunologických vlastností odlišujú aj rozdielnou biologickou úlohou v organizme a kvalitatívne rozdielnou účasťou v aterogenéze. Kým jeden druh lipoproteínov bohatých na cholesterol (LDL) a lipoproteíny bohaté na triacylglyceroly (VLDL) urýchľujú aterosklerózu ciev a označujeme ich preto ako aterogénne lipoproteíny, iná časť lipoproteínového spektra (HDL) s vysokým obsahom fosfolipidov a proteínu majú protektívne, antiaterogénne vlastnosti a tlmia rozvoj aterogenézy. Epidemiologické, klinické a experimentálne štúdie priniesli dôkazy o tom, že HDL pôsobia antiaterogénne predovšetkým ich úlohou v reverznom transporte nadbytočného cholesterolu z pe-



Obr. 5. Sekrécia prostanooidov endotelovými bunkami stimulovaná HDL₂.

Fig. 5. Endothelial cells prostanooid secretion stimulated by HDL₂.

riférnych tkanív do heparu (Johnson a spol., 1991). Opisujú sa však aj ďalšie antiaterogénne vlastnosti HDL, ako sú: protektívny účinok HDL voči oxidácii LDL partikul (Klimov a spol., 1993; Partasarathy a spol., 1990), znižovanie agregability trombocytov (Graham a spol., 1995), zvýšenie fibrinolýzy (Saku a spol., 1985), zvýšenie stability PGI₂ a stimulácia jeho tvorby v prítomnosti HDL (Yui a spol., 1988; Aoyama a spol., 1990).

HDL, ktoré tvoria heterogénnu zmes lipoproteínových partikul rozdielnych fyzikálno-chemických, imunologických, ako aj biologických vlastností sa tradične delia do dvoch subfrakcií. Využívajú sa pri tom ich rozdielne flotačné charakteristiky. HDL₂ flotuje v hustotnom rozpätí d=1,063–1,125 g/ml, HDL₃ v hustotnom intervale d=1,125–1,21 g/ml. Hoci sa pri degeneratívnom aterosklerotickom poškodení ciev potvrdil protektívny antiaterogénny účinok HDL ako celku, vymedzenie miery antiaterogénneho pôsobenia HDL₂ a HDL₃ subfrakcie v procese aterogenézy nie je doteraz jasné. Viaceré odborné práce charakterizujú HDL₂ ako subfrakciu, ktorá sa vyznačuje oproti HDL₃ výraznejším protektívnym antiaterogénnym účinkom (Salonen a spol., 1990; Stampfer a spol., 1991; Drexel a spol., 1992), iní autori sa s takýmto zistením nestotožňujú (Buring a spol., 1992; Gaziano a spol., 1993).

Naša štúdia potvrdila, že HDL, ako aj HDL₂ a HDL₃ majú výrazný účinok na sekréciu PGI₂ endotelovou bunkou. Tento účinok sa dávkovo zvyšuje až po najvyššiu koncentráciu HDL (obr. 3–5). V intervale fyziologickej koncentrácie HDL v plazme zdravých dobrovoľníkov je pomer 6-keto-PGF_{1α}/TXB₂ vyšší ako 1,0 a vypovedá o vyššej sekrécii PGI₂ v porovnaní so sekréciou TXA₂, čo je klinicky významné zistenie.

Ak analyzujeme účinok HDL₂ a HDL₃ na sekréciu PGI₂, nie je medzi nimi podstatný rozdiel. Oba dávkovo-dependentným spôsobom stimulujú sekréciu PGI₂ (obr. 4, 5). Výrazný rozdiel sa zisťuje v ich účinku na sekréciu TXA₂. HDL₂ dávkovo-dependentne tlmí sekréciu TXA₂ (obr. 5), čím pomer 6-keto-PGF_{1α}/TXB₂ demonštruje jasnú prevahu sekrécie PGI₂ (oproti TXA₂) s uplatnením sa jeho benefičného účinku na homeostázu v cieve. Takáto priaznivá odpoveď endotelových buniek na prítomnosť HDL₂ môže sčasti vysvetliť už známy antisklerotick-

ký účinok HDL, ktorý sa doteraz vysvetľoval prevažne inými mechanizmami (Johnson a spol., 1991; Graham a spol., 1995; Saku a spol., 1985).

Charakter sekrécie TXA₂ pôsobením HDL₃ poukazuje na dve rozdielnosti (obr. 4). Pri nízkej koncentrácii (0,39–0,78 mg prot/ml) HDL₂ nemá vplyv na sekréciu TXA₂, a tým následne prevláda sekrécia PGI₂. Výrazom toho je aj pomer 6-keto-PGF_{1α}/TXB₂, ktorý je v rozpätí 3,59–5,85. Pri vyššej koncentrácii (1,56–6,25 mg prot/ml) HDL₂ stimuluje súčasne sekréciu TXA₂, takže pomer 6-keto-PGF_{1α}/TXB₂ sa znižuje k hodnotám 1,0–1,5.

Z klinického pohľadu fyziologické koncentrácie HDL₃ (ktoré v tejto štúdii predstavujú vyššie koncentrácie HDL₃ proteínu) pravdepodobne nereprezentujú rozhodujúcu antiaterogénnu súčasť HDL, keďže vyššie koncentrácie HDL₃ súčasne stimulujú aj sekréciu TXA₂.

Humorálna odpoveď HDL (obr. 3) odráža aditívny vplyv oboch subfrakcií HDL na sekréciu PGI₂ a TXA₂. Hodnotenie humorálnej odpovede subfrakcií HDL odкрýva inhibičný účinok HDL₂ na sekréciu TXA₂, ktorý nie je zrejmy z účinku celej frakcie HDL. Tieto sledovania potvrdzujú našu pôvodnú predstavu o nevyhnutnosti analyzovať účinok subfrakcií oddelene.

Početné teórie vysvetľujú priaznivý antiaterogénny účinok HDL predovšetkým jeho úlohou v transporte nadbytočného cholesterolu z periférnych tkanív do heparu a ďalšími (v úvode diskutie už uvedenými) antiaterogénnymi charakteristikami HDL (Klimov a spol., 1993; Partasarathy a spol., 1990; Graham a spol., 1995; Saku a spol., 1985; Yui a spol., 1988; Aoyama a spol., 1990). Predložená práca dopĺňa spektrum antiaterogénneho pôsobenia HDL, a to je modulovanie sekrécie prostaglandínov z endotelovej bunky. Podstata je v stimulácii uvoľňovania PGI₂ a tlmení sekrécie TXA₂, čím sa uplatňuje priaznivý vazodilatačný, antiagregačný, cytoprotektívny a antiateromatózný (stimuláciou cholesterolesterhydrolázy) (Hajjar a spol., 1982; Morishita a spol., 1990) účinok PGI₂.

Prostacyklín súčasne inhibuje vazokonstrikčne pôsobiaci angiotenzín 1, vazopresín a noradrenalin (Bonner a Rahm, 1989). Priaznivý účinok HDL predstavuje aj inhibícia sekrécie TXA₂ s neuplatnením sa jeho proagregačného, vazokonstrikčného a mitogénneho účinku.

Záver

1. VLDL a LDL – aterogénna časť lipoproteínov plazmy v závislosti od dávky stimuluje sekréciu PGI₂ a TXA₂ endotelovou bunkou, pri prevahe sekrécie tromboxánu A₂ a uplatnení sa jeho vazokonstrikčného, trombogénneho a aterogénneho účinku na cievu.

2. HDL – ateroprotektívna časť lipoproteínového spektra plazmy prednostne stimuluje sekréciu prostacyklínu, čím sa v cievnom lúмене lokálne uplatňuje jeho benefičný, vazodilatačný, antiagregačný, antitrombogénny a antiaterogénny účinok na cievnu stenu. HDL₂ subfrakcia navyše v závislosti od dávky tlmí TXA₂, a tak zásadným spôsobom upravuje pomer prostacyklín/tromboxán A₂ v prospech priaznivého antiaterogénneho účinku prostacyklínu.

Literatúra

Aoyama T., Yui Y., Morishita H., Kawai C.: Prostaglandin I₂ half-life regulated by high density lipoprotein is decreased in acute myocardial infarction and unstable angina pectoris. *Circulation*, 81, 1990, s. 1784–1791.

Assmann G.: Lipid metabolism disorders and coronary heart disease. Primary prevention, diagnosis and therapy. Guidelines for general practice. München, Groupe Fournier, MMV Medizin Verlag 1993.

Austin M.A., King M.C., Vranizan K.M., Krauss R.M.: Atherogenic lipoprotein phenotype: a proposed genetic marker for coronary heart disease risk. *Circulation*, 82, 1990, s. 495–506.

Bonner G., Rahm K.H.: Prostacyclin and hypertension. Heidelberg, Springer Verlag 1989.

Boulanger C.M., Vanhoutte P.M.: The endothelium: A pivotal role in health and cardiovascular disease. Servier International 1994.

Buring J.E., O'Connor G.T., Goldhaber S.Z., Rosner B., Herbert P.N., Blum C.B., Breslow J.L., Hennekens Ch.H.: Decreased HDL₂ and HDL₃ cholesterol, apo A-I and apo A-II and increased risk of myocardial infarction. *Circulation*, 85, 1992, s. 22–29.

Fleisher L.N., Tall A.R., Witte L.D., Miller R.W., Cannon P.J.: Stimulation of arterial endothelial cell prostacyclin synthesis by high density lipoprotein. *J. Biol. Chem.*, 257, 1982, s. 6653–6655.

Drexel H., Amann F.W., Rentsch K., Neuenschwander C., Luethy A., Khan S.L., Folath F.: Relation of the level of high density lipoprotein subfractions to the presence and extent of coronary artery disease. *Amer. J. Cardiol.*, 70, 1992, s. 436–440.

Gaziano J.M., Buring J.E., Breslow J.L., Goldhaber S.Z., Rosner B., VanDenburgh M., Willett W., Hennekens Ch.H.: Moderate alcohol intake increased level of high density lipoprotein and its subfractions, and decreased risk of myocardial infarction. *New Engl. J. Med.*, 329, 1993, s. 1829–1834.

Graham D., Simpson H.D., Dominiczak A.S.F., Caslake M., Davies D.L., Kenyon C.J.: In vivo and in vitro studies of the role of HDL in platelet activation in normotensive and hypertensive subjects. *J. Human. Hypertens.*, 9, 1995, s. 753–758.

Gryglewski R.J., Botting R.M., Vane J.R.: Mediators produced by the endothelial cell. *Hypertension*, 12, 1988, s. 530–548.

Hajjar D.P., Weksler B.B., Falcone D.J., Hefton J.M., Tack-Goldman K., Minick C.R.: Prostacyclin modulates cholesteryl ester hydrolytic activity by its effect on cyclic adenosine monophosphate in rabbit aortic smooth muscle cells. *J. clin. Invest.*, 70, 1982, s. 479–488.

Chernyshov V.A., Tseluiko V.I., Ladnyi A.I., Ermakovich I.I.: Thrombolytic hemostasis and the system of vasoactive prostanoids in ischemic heart disease patients with hypoalpha lipoproteinemia. *Ter. Arch.*, 67, 1995, s. 64–66.

Jaffe E.A., Nachman R.L., Becker C.G., Minick C.R.: Culture of human endothelial cells derived from umbilical veins. Identification by morphologic and immunologic criteria. *J. clin. Invest.*, 52, 1973, s. 2745–2756.

Johnson W.J., Mahlberg F.H., Rothblatt G.H., Phillips M.C.: Cholesterol transport between cells and high density lipoproteins. *Biochim. Biophys. Acta*, 1085, 1991, s. 273–298.

Jürgens G.: Modified serum lipoproteins and atherosclerosis. *Ann. Rep. Med. Chem.*, 25, 1989, s. 169–176.

Klimov A.N., Gurevich V.S., Nikiforova A.A., Shatilina L.V., Kuzmin A.A., Teryukova N.P.: Antioxidative activity of high density lipoproteins in vivo. *Atherosclerosis*, 100, 1993, s. 13–18.

Lüscher T.F.: Endothelial dysfunction. 66th Congress of the EAS, Florence 1996, 106 s.

Makheja A.N.: Atherosclerosis: The eicosanoids connection. *Mol. Cell. Biochem.*, 111, 1992, s. 137–142.

Morishita H., Yui Y., Hattori R., Aoyama T., Kawai Ch.: Increased hydrolysis of cholesterol ester with prostacyclin is potentiated by high density lipoprotein through the prostacyclin stabilization. *J. clin. Invest.*, 86, 1990, s. 1885–1891.

Oravec S., Ronda N., Carayon A., Milliez J., Kazatchkin M.D., Hornych A.: Normal human polyspecific immunoglobulin G (intravenous immunoglobulin) modulates endothelial cell function in vitro. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 10, 1995, s. 796–800.

Partasarathy S., Barnett J., Fong L.G.: High density lipoprotein inhibits the oxidative modification of low density lipoprotein. *Biochim. Biophys. Acta*, 1044, 1990, s. 275–283.

Peterson G.L.: A simplification of the protein assay method of Lowry et al. which is more generally applicable. *Anal. Biochem.*, 83, 1977, s. 346–356.

Rengström J., Nilsson J., Tornvall P., Landou C., Hamsten A.: Susceptibility to low density lipoprotein oxidation and coronary atherosclerosis in man. *Lancet*, 339, 1992, s. 1183–1186.

Richalet J.P., Hornych A., Rathat C., Aumont J., Lamignat P., Remy P.: Plasma prostaglandins, leukotriens and thromboxane in acute high altitude hypoxia. *Resp. Physiol.*, 85, 1991, s. 205–215.

Saku K., Ahmad M., Glas-Greenwalt P. a spol.: Activation of fibrinolysis by apolipoproteins of high density lipoproteins in man. *Thromb. Res.*, 39, 1985, s. 1–8.

Salonen J.T., Salonen R., Seppänen K., Rauramaa R., Tuomilehto J.: HDL, HDL₂, HDL₃ subfractions and the risk of acute myocardial infarction. *Circulation*, 84, 1990, s. 129–139.

Stampfer M.J., Sacks F.M., Salvin S., Willett W., Hennekens Ch.H.: A prospective study of cholesterol, apolipoproteins and risk of myocardial infarction. *New Engl. J. Med.*, 324, 1991, s. 373–381.

Tribble D.L., Holl L.G., Wood P.D., Kraus R.M.: Variations in oxidative susceptibility among six low density lipoprotein subfractions of different density and particle size. *Atherosclerosis*, 93, 1992, s. 189–199.

Vane J.R.: Clinical potential of prostacyclin. S. 449–456. In: Samuelsson B. a spol. (Eds.): *Advances in Prostaglandin, Thromboxane and Leukotrien Research*. New York, Raven Press 1983.

Weiser B., Locher R., DeGraaf J., Moser R., Sachinidis A., Vertter W.: Low density lipoprotein subfractions increase thromboxane formation in endothelial cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 192, 1993, s. 1245–1250.

Whittle B.J.R., Moncada S.: Pharmacological interactions between prostacyclin and thromboxanes. *Brit. Med. Bull.*, 39, 1983, s. 232–238.

Yui Y., Aoyama T., Morishita H., Takahashi M., Takotsu Y., Kawai C.: Serum prostacyclin stabilizing factor is identical to apolipoprotein A-1 (apo A-I): a novel function of apo A-I. *J. clin. Invest.* 82, 1988, s. 803–807.

Do redakcie došlo 20.11.1997.

PREDSTAVUJEME NOVÉ KNIHY

Norman A. Paradis, Henry R. Halperin, Richard M. Nowak: Cardiac arrest. The science and practise of resuscitation medicine. Baltimore—Philadelphia—London—Paris—Bangkok—Buenos Aires—Hong Kong—Munich—Sydney—Tokyo—Wroclaw, Williams and Wilkins 1996, 981 strán.

Na svete každoročne zomierajú milióny pacientov na náhlu kardiálnu smrť (v skutočnosti nejde len o kardiálnu príčinu, iste sem patria aj krvácanie, asfyxia a ďalšie príčiny). Náhla smrť nie je definovaná etiologicky, možno povedať, že ide o náhle kardiopulmonálne zlyhanie pri inak funkčných a vitálnych ostatných orgánových systémoch. V súčasnosti teda nie je dostatok poznatkov pre to, aby sa dalo proti náhlej smrti kauzálnne konať, preventívne bojovať, hroziacu príhodu diagnostikovať a liečiť. Nevýhodou lekárov je to, že sú naďalej limitované poznatky o patofyziológii globálnej ischémie a reperfúzie. Ale hrozivá štatistika nedovoľuje lekárom vyčkávať na nové a novšie poznatky, je potrebné zozbierať klinické skúsenosti, podeliť sa s nimi a konať. Autori knihy hovoria doslova, že treba zachraňovať ľudí, ktorých “srdčia a mozgy sú príliš dobré, aby zomierali”.

Text knihy je usporiadaný tak, aby zosúladil všetky súčasné poznatky, ktoré môže lekár využiť pri akútnej medicíne. Autori sa venujú problematike ischémie a reperfúzie na bunkovej, orgánovej, systémovej a celkovej úrovni a patofyziológii kardiopulmonálneho zlyhanie a problematike resuscitácie. Ďalšie kapitoly sa venujú súčasným možnostiam liečby, pričom sa vychádza zo zná-

mej etiológie a z rôznych špecifických okolností. Sasmostatné časti sú venované postresuscitačnému syndrómu. V každej časti je kritická diskusia k známym poznatkom. Kniha je doplnená množstvom schém, grafov, originálnych ekg záznamov a tabuliek. Za každou kapitolou je zoznam použitej časopiseckej literatúry. Záver tvorí podrobný vecný index. Autori venujú záverečnú kapitolu pohľadu do budúcnosti. Nastolujú algoritmus, ktorý by mohol viesť k akcelerácii poznania aj v tejto oblasti a v konečnom dôsledku k zlepšeniu manažmentu a zdravotníckej starostlivosti o pacientov s náhlou kardiálnou smrťou: 1. výskum, prehľad, spracovanie výsledkov, 2. publikovanie poznatkov, kritické prehodnotenie získaných poznatkov, 3. odborné stretnutia s konsenzom a vytvorením nových štandardných postupov, 4. zverejnenie štandardných postupov, 5. vytvorenie, vyhodnotenie a publikovanie výučbových a praktických materiálov založených na konečných štandardných postupoch, 6. rozširovanie a implementácia týchto poznatkov a materiálov do systému vzdelávania a osvetu.

Predložená publikácia je na vysokej odbornej úrovni, napriek tomu je písaná zrozumiteľne a jasne. Cielene sa venuje problematike zastavenia srdca a dôsledne diskutuje o všetkých známych odborných súvislostiach na úrovni dostupných poznatkov. Viaceré otázky sú otvorené a naznačuje sa ďalší smer vývoja poznatkov. Kniha je určená kardiológom, lekárom intenzívnej starostlivosti, ale aj záujemcom, ktorí chcú spoznať hĺbku a šírku tejto zásadnej medicínskej otázky.

M. Bernadič