

## ENDOTHELIAL DYSFUNCTION AND PLASMA LIPIDS: THE EDO STUDY ANALYSES

BUKOVSKY I, PULLMANN R, LANG M, ORSZAGH M, HYBENOVA J, KOSKOVA E

### ENDOTELOVÁ DYSFUNKCIA A LIPIDOVÝ PROFIL: ANALÝZY ŠTÚDIE EDO

#### Abstract

**Bukovsky I, Pullmann R, Lang M, Orszagh M, Hybenova J, Koskova E:**

**Endothelial Dysfunction and Plasma Lipids: the EDO Study Analyses**

**Bratisl Lek Listy 1999; 100 (3): 149–155**

On the basis of experimental as well as clinical observations, endothelial dysfunction is (defined as impaired or absent endothelium-dependent relaxation) considered to be an important factor in the atherogenesis. Serum lipids abnormalities have been accepted as an epidemiological risk factor of atherosclerosis. In vitro, experimental as well as epidemiological studies revealed the fact, that lipoprotein oxidation plays an important role in atherogenesis. Recently invented non-invasive methods to test and measure the endothelial function in vivo opened the opportunity to study the influence of different serum lipids on the endothelial function directly. Therefore, we decided to employ this non-invasive method for studying the endothelial function and observe the influence of various levels of plasma lipids and lipoprotein oxidation on the endothelial function of arteries in middle-aged men, since they are the most endangered part of population.

In our study we used a method of measuring the diameter of a. radialis by high-resolution ultrasound (Sonoline 450, Siemens, Japan) and further mathematical and statistical analysis of functional as well as relative vasodilation reserve followed these measurements. Blood samples were taken within 24 hours of ultrasonography to study serum lipids (total cholesterol, HDL, triglycerides) and parameters of oxidation/antioxidation (superoxid dismutase — SOD, malondialdehyde — MDA).

Sixty men, 25–45 years old, from an area of basically the same level of pollution were examined. We found a negative correlation between FVDR and TCH ( $p=0.01$ ), FVDR and Tg ( $p=0.002$ ) and FVDR a TCH/HDL ( $p=0.015$ ). Positive correlation exists ( $p<0.001$ ) between TCH, Tg levels and TCH/HDL ratio and MDA level in all cases. Analysing further data from the EDO Study, we can conclude, that increa-

#### Abstrakt

**Bukovský I., Pullmann R., Lang M., Országh M., Hybenová J., Kosková E.:**

**Endotelová dysfunkcia a lipidový profil: Analýzy štúdie EDO**

**Bratisl. lek. Listy, 100, 1999, č. 3, s. 149–155**

Cievny endotel predstavuje masívny orgán disponujúci aj schopnosťou syntézy a sekrécie významných vazoregulačných látok. Na základe experimentálnych, ako aj klinických pozorovaní sa endotelová dysfunkcia (definovaná ako zhoršená alebo neprítomná endotelovo-závislá relaxácia) pokladá za významný moment v procese aterosklerózy, pričom môže predstavovať tak príčinu, ako aj dôsledok aterosklerózy. Patologické odchýlky v lipidovom profile séra sa považujú za epidemiologický rizikový faktor aterosklerózy. In vitro, experimentálne a epidemiologické štúdie poukazujú aj na to, že oxidácia lipoproteínov má v procese aterosklerózy dôležitú úlohu. Nedávno zavedené neinvazívne metódy funkčného vyšetrenia endotelu in vivo otvárajú možnosti pre skúmanie, či sa niektoré komponenty lipidového profilu priamo zúčastňujú na funkčnom poškodení endotelu. Rozhodli sme sa preto využiť neinvazívne meranie funkčnosti endotelu a sledovať vplyv plazmatických lipidov a mieru ich oxidácie na funkčný stav artériového endotelu u mužov stredného veku, pretože ide o najrizikovejšiu skupinu obyvateľstva. V našej štúdii sme použili meranie lúmenu a. radialis ultrazvukovým prístrojom (Sonoline 450, Siemens, Japonsko) s vysokou rozlišovacou schopnosťou (HRUS) a následný výpočet funkčnej (FVDR) a relatívnej vazodilatačnej rezervy (RVDR). Odber krvných vzoriek na stanovenie lipidových parametrov (TCH, HDL, Tg), superoxid dismutázy (SOD) a malondialdehydu (MDA) bol uskutočnený do 24 hodín od HRUS meraní.

Vyšetrených bolo 60 mužov vo veku 25–45 rokov. Na vylúčenie vplyvu rozdielneho príjmu oxidantov z ovzdušia boli muži vybraní z oblasti rovnakého znečistenia. Objavili sme negatívnu koreláciu medzi FVDR a TCH ( $p=0,01$ ), FVDR a Tg ( $p=0,002$ ) a medzi FVDR a TCH/HDL ( $p=0,015$ ). Medzi hladinami TCH, Tg a pomerom TCH/HDL a hladinou MDA existuje vo všetkých prípadoch pozitívna korelácia ( $p<0,001$ ). Ukázalo sa, že aj optimálna hodnota TCH z hladiska funkčnosti endotelu je 5,0 mmol/L. Z ďalších analýz štúdie EDO možno teda zhrnúť, že

Institute of Physiology, Faculty of Medicine, Comenius University, Bratislava, Dpt of Clinical Biochemistry, Faculty Hospital, Martin, Dpt of Radiodiagnosics, Hospital Martin

**Address for correspondence:** I. Bukovsky, MD, Institute of Physiology, Sasinkova 2, SK-811 08 Bratislava, Slovakia.

Fyziologický ústav Lekárskej fakulty Univerzity Komenského v Bratislave, Oddelenie klinickej biochémie Fakultnej nemocnice v Martine a Oddelenie rádiodiagnostiky Polikliniky v Martine

**Adresa:** MUDr. I. Bukovský, Fyziologický ústav LFUK, Sasinkova 2, 811 08 Bratislava.

sed plasma lipids are more likely to be oxidized, which, in turn, is the probable reason of endothelium-dependent vasodilation impairment. (Tab. 1, Fig. 13, Ref. 17.)

**Key words:** endothelial dysfunction, plasma lipids, lipoprotein oxidation, malondialdehyde.

Cievny endotel predstavuje masívny orgán (odhadovaná hmotnosť jeho bunkovej populácie je 1,5 kg) disponujúci aj schopnosťou syntézy a sekrécie významných vazoregulačných látok (Rubanyi, 1991). Endotelové bunky majú podľa všetkého schopnosť vnímať fyzikálne (hemodynamické tlaky a strihové napätie tzv. „shear stress“), chemické ( $\text{pO}_2$ ) a humorálne (cirkulujúce alebo lokálne vylučované aminy, peptidy, proteíny, nukleotidy a metabolity kyseliny arachidónovej) zmeny a následne ovplyvniť cievny tonus (krátkodobá regulácia: relaxácia/kontrakcia hladkej svaloviny cievnej steny), ako aj cievnu štruktúru (dlhodobá regulácia: proliferácia/inhibícia proliferácie hladkej svaloviny cievnej steny). Endotel je teda vplyvný faktor homeostázy kardiovaskulárneho systému. Prehľad známych vazoreaktívnych faktorov produkovaných endotelom je v tabuľke 1.

Pôsobenie vazoaktívnych substancií produkovaných artériovým endotelom možno zhrnúť do schémy (obr. 1), z ktorej vystupuje do

**Tab. 1. Currently known vasoactive factors produced by endothelium (compiled from Rubanyi, 1991 and Bevan, 1995).**

Name	Effect
endothelins	vessel smooth muscle contraction mitogenic (airways smooth muscles) stimulates proliferation (growth of endothelial cells)
thromboxan $\text{TxA}_2$	vessel smooth muscle contraction thrombocytes aggregation stabilization of thrombus cytotoxic arrhythmogenic
free radicals FR	vessel smooth muscle contraction cytotoxic inhibition of EDRF and prostacyclin
$\text{PGI}_2$ synthesis	
endothelium-derived contracting factors EDCF	vessel smooth muscle contraction
prostacyclin $\text{PGI}_2$	vessel smooth muscle relaxation antithrombogenic antiatherogenic profibrinolytic cytoprotective stimulation of renin secretion antimutagenic antiarrhythmic
endothelium-derived relaxing factor(s) EDRF/NO	vessel smooth muscle relaxation stimulation of $\text{PGI}_2$ production stimulation of renin production in isolated kidneys
endothelium-derived hyperpolarizing factor EDHF	vessel smooth muscle relaxation as the consequence of cell membrane hyperpolarization

zvýšené hladiny plazmatických lipidov sú častejšie spojené s ich oxidáciou, čo veľmi pravdepodobne vedie k poškodeniu relaxácie závislej od endotelu. (Tab. 1, obr. 13, lit. 17.)

**Kľúčové slová:** endotelová dysfunkcia, plazmatické lipidy, oxidácia lipoproteínov, malondialdehyd.

**Tab. 1. Prehľad v súčasnosti známych vazoaktívnych faktorov produkovaných endotelom (zostavené podľa Rubanyiho, 1991; Bevana, 1995).**

Názov	Účinok
endotelíny	kontrakcia hladkej svaloviny ciev mitogénny (hl. sv. dých. ciest) stimulácia rastu buniek (reendotelizácia)
tromboxán $\text{TxA}_2$	kontrakcia hladkej svaloviny ciev agregácia trombocytov stabilizácia trombu cytotoxický arytmogénny
voľné radikály FR	kontrakcia hladkej svaloviny ciev cytotoxický inhibícia syntézy EDRF a prostacyklínu $\text{PGI}_2$
endotelom produkované kontrakčné faktory EDCF	kontrakcia hladkej svaloviny ciev
prostacyklín $\text{PGI}_2$	relaxácia hladkej svaloviny ciev antitrombogénny antiaterogénny profibrinolytický cytoprotektívny stimulácia sekrécie renínu antimutagénny antiarytmický
endotelom produkovaný relaxačný faktor(y) EDRF/NO	relaxácia hladkej svaloviny ciev stimulácia produkcie $\text{PGI}_2$ stimulácia produkcie renínu v izolovaných obličkách
endotelom produkovaný hyperpolarizačný faktor EDHF	relaxácia hladkej svaloviny ciev v dôsledku hyperpolarizácie bunkovej membrány

popredia nevyhnutnosť rovnováhy vplyvu dvoch antagonistických skupín vazoaktívnych látok na bunky hladkej svaloviny (SMC) — relaxačného (v konečnom dôsledku vazodilatačného) a rast inhibujúceho na jednej strane a kontrakčného (prejavujúceho sa vazokonstrikciou) a rast stimulujúceho na druhej strane.

Patologické odchýlky v lipidovom profile séra sú už dlhšie potvrdené ako epidemiologický rizikový faktor aterosklerózy (Nestel, 1993; Solberg a Strong, 1983). Zvýšené hladiny plazmatických lipoproteínov (LP) sú vystavené zvýšenému riziku oxidácie, malonácie prípadne acetylácie — zmien, ktoré vedú k chemickej deformácii LP a následnej poruche v regulácii ich influxu najmä do endotelových a subendotelových buniek (Esterbauer, 1995).

Nerovnováha uvedených regulačných mechanizmov endotelu (najmä oxidu dusnatého — NO a jej následkom znížená vazodila-

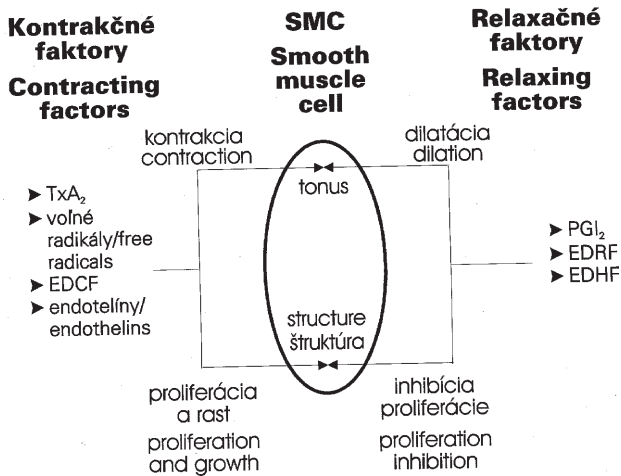


Fig. 1. Relationship between the effects of selected vasoactive factors. Obr. 1. Vzťah účinkov vybraných vazoreaktívnych faktorov.

tačná schopnosť) je typickým prejavom endotelovej dysfunkcie, ktorá je príčinou, ako aj dôsledkom mnohých patologických javov v kardiovaskulárnom systéme (Kristová, 1998; Štvrtinová a spol., 1998). Všeobecne sa akceptuje hypotéza o toxickom pôsobení reaktívnych foriem kyslíka a oxidovaných lipoproteínových častíc na funkčnosť endotelu (Bauer, 1994) a dáva sa do súvislosti so zvýšenými hladinami krvných lipoproteínov. Endotelovú dysfunkciu možno teda považovať za bod konvergencie dvoch línií aterosogenézy: lipidovej a oxidačnej. Obrázok 2 ukazuje predstavu o prepojení lipidovej a oxidačnej teórie aterosogenézy na úrovni cievnej steny a zároveň vyznačuje možné miesta inhibičného a toxického pôsobenia oxLDL na endotel a jeho sekrečné a dilatačné funkcie.

Predmetom nášho sledovania bol vzťah medzi endotelovou funkčnosťou (v stave reaktívnej hyperémie) a hodnotami lipidových parametrov v krvi u mužov stredného veku.

**Súbor**

Na sledovanie vplyvu biologických oxidácií v organizme človeka bolo potrebné zostaviť presne definovaný súbor. Vzhľadom na technický a časový charakter USG meraní sa autori rozhodli pre súbor 60 probandov. Pre celý súbor platili nasledovné kritériá:

1. pohlavie (mužské — výskyt aterosklerózy väčší ako u žien),
2. vek 25—45 rokov (rizikové obdobie — klinické prejavy aterosklerózy),
3. bydlisko a pracovisko v oblasti rovnakého alebo podobného znečistenia (podmienené potrebou eliminovať vplyv rôznej expozície voľnými radikálmi z ovzdušia).

Pri výbere sa kontrolovali známe rizikové faktory. Situáciu v znečistení ovzdušia sme konzultovali s Obvodným úradom životného prostredia. Autori majú k dispozícii údaje o znečistení ovzdušia v celom regióne.

**Metóda**

Nedávno zavedené neinvazívne metódy umožňujú funkčné vyšetrenie endotelu in vivo. Ako použiteľný indikátor endotelovej funk-

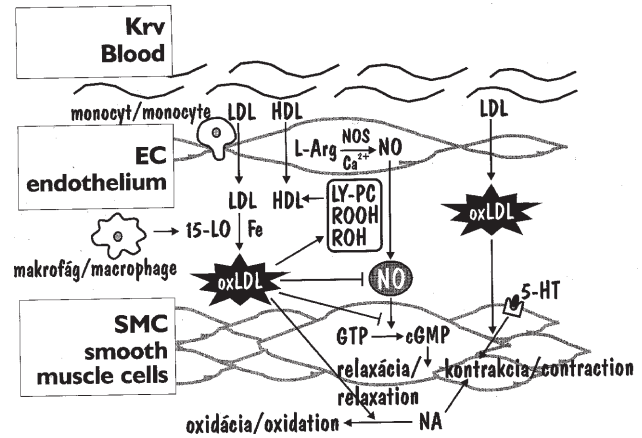


Fig. 2. Relationship between lipid and oxidation atherogenesis pathways. 15-LO — 15-lipoxygenase, 5-HT — serotonin, GTP — guanosin triphosphate, LDL — low density lipoproteins, NO — nitric oxide, ROH — hydroxylipids, cGMP — cyclic guanosin monophosphate, HDL — high density lipoproteins, LY-PC — lysophosphatidyl choline, NOS — NO-synthase, ROOH — hydroperoxyperoxide, EC — endothelial cells, L-Arg — L-Arginine, NA — norepinephrine, oxLDL — oxidized LDL, SMC — smooth muscle cells (according to).

Obr. 2. Vzťah medzi lipidovou a oxidačnou cestou aterosogenézy. 15-LO — 15-lipoxygenáza, 5-HT — sérotonín, GTP — guanozíntrifosfát, LDL — lipoproteíny nízkej hustoty, NO — oxid dusnatý, ROH — hydroxylipidy, cGMP — cyklický guanozínmonofosfát, HDL — lipoproteíny vysokej hustoty, LY-PC — lyzofosfatidylcholín, NOS — NO-syntáza, ROOH — hydroperoxylipidy, EC — endotelové bunky, L-Arg — L-arginín, NA — noradrenalín, oxLDL — oxidované LDL, SMC — hladká svalovina ciev (voľne podľa).

čnosti slúži reakcia cievnej steny na fyziologicky stimulované vyplavenie NO. Najvýraznejší stimulačný účinok na vyplavenie NO má akútny alebo pulzný charakter zvýšeného prietoku krvi (Pohl a spol., 1986; Pohl a spol., 1991). Preto sme zvolili metódu podľa Celermajera (1992), ktorej výhoda oproti dovtedy používaným metódam vyšetrovania funkčnosti endotelu a merania krvného prietoku je v jej neinvazívnosti. Dovtedajšie metódy skúmania dilatácie závislej od endotelu (EDVD) u ľudí používali väčšinou ako stimulačný efekt podanie acetylcholínu a mali invazívny charakter.

Vyšetrovaným probandom sme tlakomerovou manžetou vyvolali oklúziu, ktorá po odstránení manžety viedla k dilatácii závislej od endotelu. U každého probanda sme robili sériu meraní tak, ako to ukazuje protokol.

Priemer vyšetrovanej artérie sa meral pomocou ultrazvuku s vysokou rozlišovacou schopnosťou (prístroj Sonoline 450, Siemens, Japonsko) z dvojrozmerného obrazu. Na meranie sme použili sektorovú sondu s výkonom 7,0 MHz.

*Protokol usg meraní vyzeral nasledovne:*

1. vyšetrovaný pokojne ležal najmenej 10 minút,
2. prvé meranie priemeru cievy v pokoji — meranie R<sub>1</sub>,
3. vyvolanie oklúzie založením manžety nafúkanej na 40 kPa (300 Torr) na 4,5 minúty,
4. druhé meranie priemeru cievy 30 sekúnd pred uvoľnením manžety — verifikácia kompresie — meranie K,
5. tretie meranie priemeru cievy 90 sekúnd po deflácii manžety — fáza reaktívnej hyperémie — meranie H,

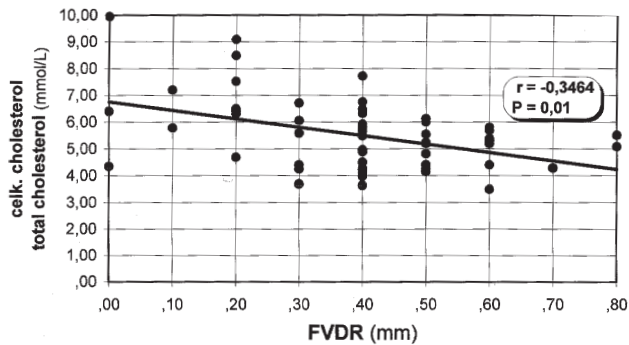


Fig. 3. Relationship between FVDR and TCH. n=60.  
Obr. 3. Vzťah medzi FVDR a TCH. n=60.

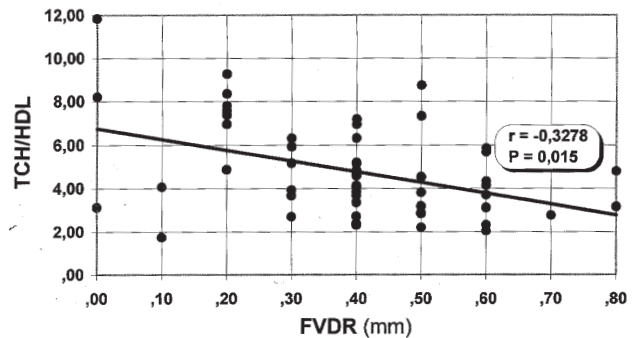


Fig. 4. Relationship between FVDR and TCH/HDL. n=60.  
Obr. 4. Vzťah medzi FVDR a TCH/HDL. n=60.

6. vyšetovaný opäť 15 minút ležal v pokoji,
7. štvrté meranie priemeru cievy v pokoji pred farmakologickým vyvolaním dilatácie — meranie  $R_2$ ,
8. sublingválna aplikácia 400  $\mu$ g nitroglycerínu v spreji — trinitrát glycerolu GTN (za účelom vyvolania farmakologickej dilatácie nezávislej od endotelu — GTN je donor NO, a preto jeho účinok nezávisí od produkcie EDRF endotelom),
9. piate meranie priemeru cievy sa uskutočnilo 3–4 minúty po aplikácii GTN — meranie GTN.

Oproti pôvodnej metodike sme z investigatívnych dôvodov (potvrdiť použiteľnosť metodiky aj pri meraní menších artérií a skúmať mieru endotelom sprostredkovanvej dilatácie v menších cievach) namiesto a. femoralis (resp. a. brachialis) merali priemer radiálnej artérie na pravej ruke v anatomicky definovanom štandardnom mieste (0–0,5 cm proximálne od vrcholu processus styloideus).

Protokol celého sledovania zahŕňal okrem USG meraní aj:

- odber krvi nalačno (sledovanie lipidových krvných parametrov a zvolených ukazovateľov oxidácie a antioxidačie),
- vyplnenie osobného dotazníka, ktorý sledoval otázky stravovania, fajčenia, telesnej aktivity, užívania liekov a vitamínových antioxidačných doplnkov, chorobnosti, dĺžky dojčenia po narodení,
- autori výskumu mali k dispozícii aj kompletnú zdravotnú dokumentáciu vyšetovaných.

#### Biochemické analýzy

Z odobratých krvných vzoriek sa analyzovali nasledovné lipidové parametre:

- celkový plazmatický cholesterol — TC,
- HDL-cholesterol — HDLC,
- triacylglyceroly — TG,
- apolipoproteíny (apolipoprotein AI — apo AI, apolipoprotein B — apo B).

Ako markery plazmatickej lipoperoxidácie v in vivo podmienkach sa použili nasledovné biochemické parametre:

- betakarotén — BC (exogénny antioxidant),
- malondialdehyd — MDA (produkt lipoperoxidácie) a
- superoxidismutáza — SOD (endogénny antioxidačný enzým).

Odber krvi sa uskutočnil u každého probanda do 24 hodín po usg meraní. Krvné vzorky sme spracúvali priebežne do niekoľko hodín po odbere. Na analýzy lipidových parametrov bolo použité

čerstvé sérum. Parametre oxidácie sme analyzovali do troch dní po odbere zo zmrazeného séra uschovaného pri  $-20$  °C. Hodnoty LDL sa dopočítali použitím overeného vzorca:

$$\text{LDL} = \text{TCH} - \text{HDL} - \text{TG}/5.$$

#### Nové vyjadrenie endotelovej funkčnosti

Namerané hodnoty priemeru a. radialis sa udávajú v mm a u meraného jednotlivca sú významne podmienené anatomicky. Za účelom relatívneho vyjadrenia endotelovej funkcie sme navrhli a vypočítali nové ukazovatele endotelovej funkčnosti:

- FVDR (funkčná vazodilatačná rezerva) — rozdiel nameraných hodnôt priemeru a. radialis vo fáze reaktívnej hyperémie (meranie H) a v pokoji (meranie R1). Táto hodnota vyjadruje mieru schopnosti cievy reagovať dilatáciou závislou od endotelu. Hodnotenie: čím je FVDR vyššie, tým je zachovalejšia schopnosť endotelu reagovať na zvýšený prietok krvi produkciou vazodilatačných faktorov (najmä EDRF a  $\text{PGI}_2$ ).
- RVDR (relatívna vazodilatačná rezerva) — pomer H/R1. Vyjadruje presnejšie ako FVDR možnosti cievy dilatovať na podnet zvýšeného krvného prietoku. Hodnotenie: čím je RVDR väčšia, tým je endotel zachovalejší.

#### Výsledky

Vzhľadom na opísané súvislosti medzi lipidovou a oxidačnou teóriou aterosklerózy sme skúmali vzťah medzi hladinami sledovaných krvných lipidov na jednej strane a výsledkami funkčného vyšetrenia endotelu na druhej strane. Objavili sme štatisticky významné nepriame závislosti medzi hladinami skriningovo vyšetovaných krvných lipidov a parametrami funkčného stavu endotelu.

Nepriama závislosť existuje medzi hladinou celkového plazmatického cholesterolu — TCH a FVDR, medzi pomerom celkový plazmatický cholesterol/HDL-cholesterol (TCH/HDL) a FVDR, ako aj medzi hladinou triacylglycerolov a FVDR. Charakteristika týchto závislostí je na obrázkoch 3, 4 a 5 (Bukovský a spol., 1995).

Naše analýzy odhalili aj existenciu nepriamej závislosti medzi koncentráciou LDL a FVDR i RVDR. Vzťah priamej závislosti medzi koncentráciou LDL a MDA je úplne v súlade s našimi inými zisteniami (Bukovský a spol., 1995) a ostatnými údajmi z literatúry. Tieto vzťahy ukazujú obrázky 6, 7 a 8. Medzi LDL a SOD

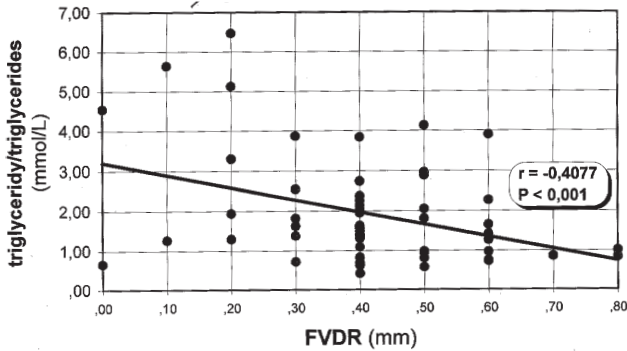


Fig. 5. Relationship between FVDR and TG. n=57.  
Obr. 5. Vzťah medzi FVDR a TG. n=57.

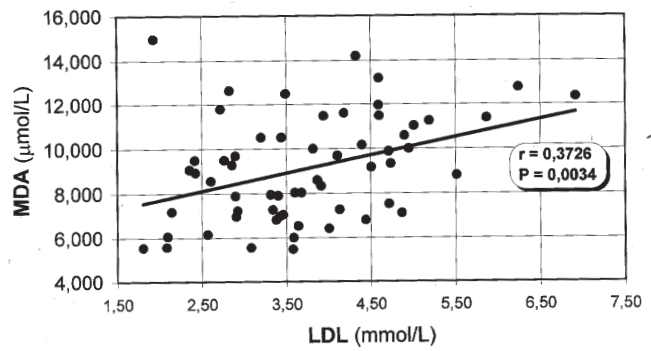


Fig. 8. Relationship between LDL and MDA. n=60.  
Obr. 8. Vzťah medzi LDL a MDA. n=60.

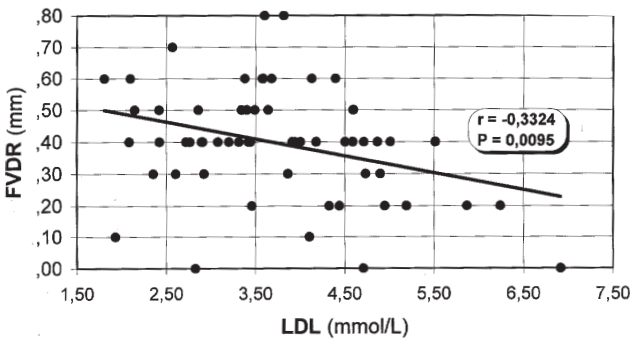


Fig. 6. Relationship between LDL and FVDR. n=60.  
Obr. 6. Vzťah medzi LDL a FVDR. n=60.

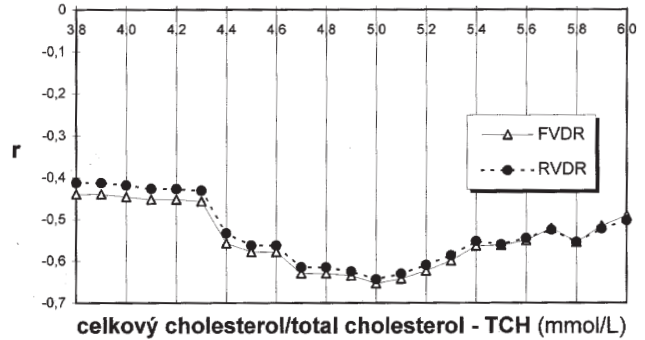


Fig. 9. Relationship between "r" and TCH.  
Obr. 9. Vzťah medzi "r" a TCH.

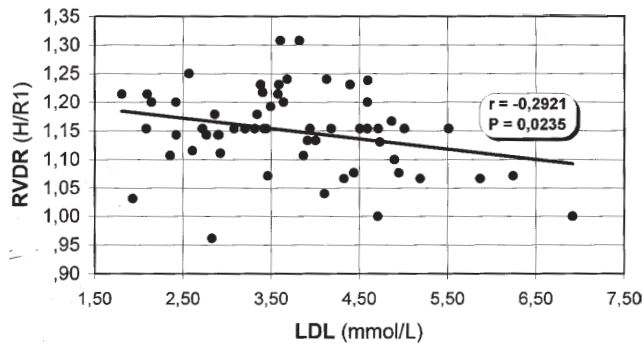


Fig. 7. Relationship between LDL and RVDR. n=60.  
Obr. 7. Vzťah medzi LDL a RVDR. n=60.

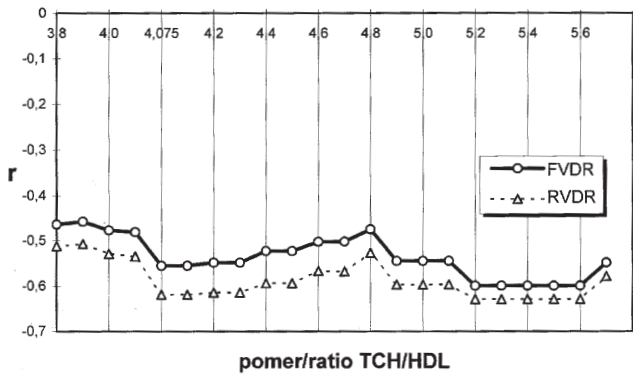


Fig. 10. Relationship between "r" and TCH/HDL.  
Obr. 10. Vzťah medzi "r" a TCH/HDL.

ani medzi MDA a betakaroténom sa nepreukázal žiadny štatisticky významný vzťah závislosti.

Preukázaný negatívny vplyv zvýšených hladín TCH a LDL na funkčnosť endotelu nás viedol k hľadaniu odpovede na otázku, či súčasná hranica pre posúdenie normálnej hodnoty TCH je z hľadiska zachovania endotelovej funkčnosti vyhovujúca. Pri tejto analýze sme skúmali vývoj hodnoty korelačného koeficientu r v závislosti

od zvolenej hranice hodnoty TCH v rámci celého súboru a skúmania závislosti vzťahu TCH a FVDR, resp. RVDR v oboch podskupinách súboru (nad zvolenou hranicou a pod zvolenou hranicou). Výslednú krivku priebehu hodnoty r v rámci analýz FVDR a RVDR ukazuje obrázok 9. Rovnakým spôsobom sme analyzovali priebeh r hodnoty aj pre normu pomeru TCH/HDL. Výsledok tejto analýzy ukazuje obrázok 10 (Bukovský a spol., 1996).

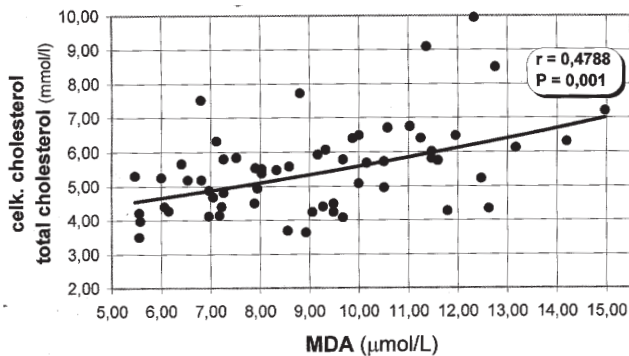


Fig. 11. Relationship between MDA and TCH. n=59.  
Obr. 11. Vzťah medzi MDA a TCH. n=59.

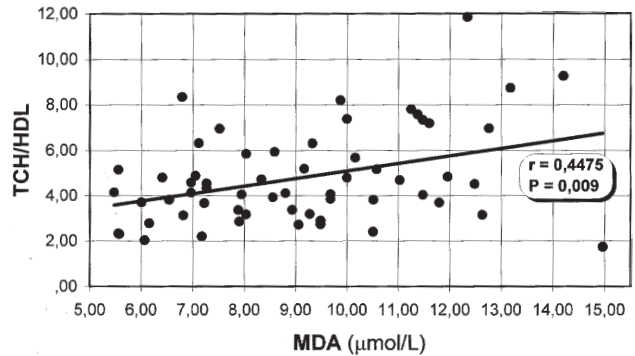


Fig. 12. Relationship between MDA and TCH/HDL. n=59.  
Obr. 12. Vzťah medzi MDA a TCH/HDL. n=59.

Priebeh hodnoty r pre LDL a funkčné endotelové parametre sme neskúmali, pretože hoci existuje definovaná hranica pre normálnu hladinu LDL (<2,3 mmol/L), jeho hodnota koreluje s TCH a aterogénne nebezpečie sa stanovuje skôr na základe pomeru TCH/HDL.

Pri skúmaní vzťahu medzi lipoperoxidáciou a hladinami TCH, TG a pomerom TCH/HDL sa potvrdil predpoklad priamej závislosti medzi koncentráciou MDA a všetkými tromi lipidovými parametrami. Tieto výsledky sú v súlade so všeobecnou predstavou o zvýšenej náchylnosti lipoproteínových (najmä LDL) častíc k oxidácii za predpokladu ich zvýšenej koncentrácie. Uvedené závislosti sú na obrázkoch 11, 12 a 13 (Bukovský a spol., 1995).

### Diskusia

Použitím neinvazívnej metódy vyšetovania funkčnosti artériového endotelu u mužov stredného veku a biochemických analýz sme zistili, že hladiny plazmatického cholesterolu u človeka korelujú s funkčným stavom endotelu, čo bolo predtým známe len z experimentálnych podmienok. Naše analýzy ukázali podobné negatívne závislosti medzi pomerom TCH/HDL a FVDR, ako aj TG a FVDR.

Vzťah medzi koncentráciou LDL (lipoproteíny s nízkou hustotou) a koncentráciou MDA (Bukovský a spol., 1995) s veľkou pravdepodobnosťou potvrdzuje existenciu masívnejšej lipoperoxidácie mastných kyselín v LP pri ich zvýšenej koncentrácii v plazme.

Aj uvedené vzťahy medzi TCH, TCH/HDL a TG na jednej strane a FVDR a RVDR na druhej strane podporujú predstavu o tesnom prepojení lipidovej a oxidačnej aterogénnej línie. Ukazuje sa totiž, že zvýšené hladiny TCH, LDL a TG a súčasne znížená hladina HDL (reverzný transport cholesterolu od buniek do pečene) vytvárajú predpoklady intenzívnejšej lipoperoxidácie, ktorej podliehajú predovšetkým LDL a ktorá v konečnom dôsledku — okrem iného — prispieva k strate endotelovej funkčnosti. Potvrdzuje to priama závislosť medzi koncentráciou MDA a štyrmi významnými aterogénnymi lipidovými parametrami (TCH, LDL, TCH/HDL a TG). Naše výsledky sú v súlade so všeobecne akceptovaným faktom zvýšenej náchylnosti LP-častíc k oxidácii za predpokladu ich zvýšenej koncentrácie.

Vzhľadom na mimoriadne dlhý polčas rozkladu LDL (rádovo 10–50-krát dlhší ako HDL, resp. VLDL) oproti iným LP je zrej-

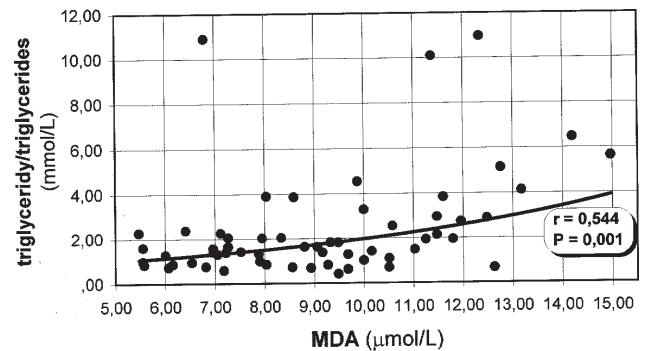


Fig. 13. Relationship between MDA and TG. n=59.  
Obr. 13. Vzťah medzi MDA a TG. n=59.

mé, že zvýšená hladina TCH (LDL transportuje až 60 % z celkového plazmatického cholesterolu), zvýšená koncentrácia LDL, znížená koncentrácia HDL (pomer TCH/HDL zvýšený nad 4,0) a zvýšená hladina TG zvyšujú pravdepodobnosť oxidácie LDL a jej dôsledkov.

Podľa Zhaa a spol. (1997) je toxický vplyv oxidovaného LDL významne spojený so zvýšením cytosólovej koncentrácie  $Ca^{2+}$ , čo vedie následne k reorganizácii cytoskeletu a poškodeniu integrity endotelovej bariéry. Táto strata integrity sa pripisuje nielen morfológickej deformácii buniek, ale aj zmenám v štruktúre extracelulárnej matrix. To spoločne facilituje subendotelový prienik lipidov a progresiu aterosklerózy, ako aj poškodenie receptorových funkcií endotelu.

Vzhľadom na uvedenú priamu závislosť medzi LDL a MDA, ako aj na ďalšie súvisiace vzťahy (MDA a FVDR, MDA a RVDR, LDL a FVDR, LDL a RVDR) možno považovať zvýšenú koncentráciu LDL za rizikový, endotel poškodzujúci faktor. Tieto výsledky sú priamym dôkazom pre možné prepojenie oxidačnej a lipidovej teórie aterogenézy.

Hypercholesterolémia je príčinou poškodenia dilatácie závislej od endotelu, ako aj zvýšenej adhézie monocytov a trombocytov na endotel (Lüscher a spol., 1996). Pozornosť venovaná dosiahnutiu a udržaniu normálnej hodnoty TCH je preto pochopiteľná.

Z analýzy priebehu r hodnoty pre TCH a funkčné parametre endotelu vyplýva, že norma TCH sa vzhľadom na uchovanie di-

latácie závislej od endotelu nachádza na úrovni 5,0 mmol/L a nie na súčasnej norme 5,2 mmol/L. Tento rozdiel (5,0 oproti 5,2 mmol/L) sa javí ako veľmi diskretný a klinicky nevýznamný, ale bližší pohľad na súvislosti cez údaje z epidemiologických štúdií (Castelli, 1994) odhalí, že tento rozdiel ( $\delta=3,85\%$ ) v konečnom dôsledku znamená 7,7—11,6 % rozdiel v úmrtnosti na ischemickú chorobu srdca. Je totiž známe, že aj nepatrné zníženie koncentrácie TCH má angioprotektívny efekt. Priebeh hodnoty r pre TCH/HDL a funkčné endotelové parametre neukázal zásadný rozdiel oproti súčasnej norme — 4,0: bod zlomu nastal na úrovni 4,075.

Naša analýza priebehu korelačného faktora r v závislosti od hraničnej hodnoty TCH a FVDR, resp. RVDR (obr. 12) sa ukázala ako použiteľný nástroj pri skúmaní normy plazmatického cholesterolu. Umožňuje precízne stanoviť hranicu zlomu, pri ktorej ďalšie znižovanie hladiny cholesterolu nemá protektívny účinok na cievy endotel. Tento výsledok si, samozrejme, nerobí nárok byť rozhodujúcim argumentom v nazeraní na normálnu hladinu TCH, ale nie je v rozpore s neustálym trendom znižovania normy TCH. Aj v súčasnosti sme svedkami odporúčaní prehodnotiť normálne hodnoty TCH.

Priebeh hodnoty r pre pomer TCH/HDL a FVDR, resp. RVDR (obr. 10) ukazuje na prvý pohľad dva body zlomu. Kým prvý (na úrovni 4,075) koreluje so súčasnou hodnotou normy TCH/HDL, druhý bod zlomu (pri hodnote 4,9 a ďalej) je s najväčšou pravdepodobnosťou len artefciálnym javom spôsobeným nízkou početnosťou podsúboru ( $n=17$  a menej) v analýze stúpajúcej hodnoty TCH/HDL.

Endotelová dysfunkcia je na základe dostupných informácií úplne reverzibilný proces (Levine a spol., 1996; Ting a spol. 1997; Stroes a spol. 1997). To vytvára predpoklad úspešného klinického použitia informácií o rizikových a protektívnych faktoroch vzhľadom na endotel. Snaha o presné definovanie týchto faktorov bude pokračovať dovtedy, kým sa nepodarí dosiahnuť uspokojivú úroveň možností prevencie aterosklerózy. Naše výsledky prispeli k chápaniu a poznávaniu interaktívnych vzťahov oxidácie krvných lipidov a lipoproteínov, ako aj antioxidantov na jednej strane a funkčnosťou artériového endotelu na druhej strane.

## Literatúra

- Bauer V., Gergel D.:** Endotel a reaktívne formy kyslíka, Bratisl. lek. Listy, 95, 1994, s. 243—263.
- Bevan J.A., Kaley G., Rubanyi G.M. (Ed.):** Flow-Dependent Regulation of Vascular Function. New York, Oxford University Press, American Physiological Society 1995, 371 s.
- Bukovský I., Pullmann R., Hraško P.:** Current borderline for plasma cholesterol (5,2 mmol/L) as the indicator of endothelial dysfunction in EDO study. S. 48. In: Abstract of International 14th Puijo Symposium, jún 1996, Kuopio, Fínsko.
- Bukovský I., Pullmann R., Lang M., Országh M., Hybenová J., Kosková E.:** Endothelial function — the function of oxidative status in middle-aged men? S. R66. In: Abstract of The First FEPS Congress, Maastricht, september 1995. Prednáška: Europ. J. Physiol., 430, 1995, Suppl. 4.
- Celermajer D. S., Sorensen K. E., Gooch V. M., Spiegelhalter D.J., Miller O.I., Sullivan J.D., Lloyd J.K., Deanfield J.E.:** Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. Lancet, 340 (8828), Nov. 7, 1992, s. 1111—1115.
- Esterbauer H.:** The Chemistry of Oxidation of Lipoproteins. S. 55—79. In: Rice-Evans C., Bruckdorfer K.R. (Eds.): Oxidative Stress, Lipoproteins and Cardiovascular Dysfunction. London, Portland Press 1995.
- Kristová V., Kriška M.:** Endotelové choroby a endotelovo-protektívne látky, Bratisl. lek. Listy, 99, 1998, č. 10, s. 511—517.
- Lüscher T.F., Tanner F.C., Noll G.:** Lipids and endothelial function: effects of lipid-lowering and other therapeutic interventions. Curr. Opinion Lipidol., 7, 1996, č. 4, s. 234—240.
- Levine G.N., Frei B., Koulouris S.N., Gerhard M.D., Keaney J.F., Vita J.A.:** Ascorbic acid reverses endothelial vasomotor dysfunction in patients with coronary artery disease. Circulation, 93, 1996, č. 6, s. 1107—1113.
- Nestel P.J.:** Preventing Coronary Heart Disease. S. 216—219. In: Mwa-hlquist (Ed.): Nutrition in a sustainable environment. Proceedings of the XVth Intenational Congress of Nutrition, Smith-Gordon, Nishimura, London, 1994.
- Pohl U., Busse R., Kuon E., Bassenge E.:** Pulsatile perfusion stimulates the release of endothelial autocooids. J. Appl. Cardiol., 1, 1986, s. 215—235.
- Pohl U., Herlan K., Huang A., Bassenge E.:** EDRF-mediated shear-induced dilation opposes myogenic vasoconstriction in small rabbit arteries. Amer. J. Physiol. (Heart Circulat. Physiol.), 261, 1991, č. 30, s. H2016—2023.
- Rubanyi G.M. (Ed.):** Cardiovascular significance of endothelium-derived vasoactive factors. Mount Kisco, Futura Publishing Comp., 1991, s. 357.
- Solberg L.A., Strong J.P.:** Risk factors and atherosclerotic lesions: A review of autopsy studies. Arteriosclerosis, 3, 1983, s. 187—198.
- Stroes E., Kastelein J., Cosentino F., Erkelens W., Wever R., Koomans H., Luscher T., Rabelink T.:** Tetrahydrobiopterin restores endothelial function in hypercholesterolemia. J. Clin. Invest., 99, 1997, č. 1, s. 41—46.
- Štvrtinová V., Ferencík M., Hulín I., Jahnová E.:** Cievy endotel ako operátor prenosu informácií medzi kardiovaskulárnym a imunitným systémom. Bratisl. lek. Listy, 99, 1998, č. 1, s. 5—19.
- Ting H.H., Timimi F.K., Haley E.A., Roddy M.A., Ganz P., Creager M.A.:** Vitamin C improves endothelium-dependent vasodilation in forearm resistance vessels of humans with hypercholesterolemia. Circulation, 95, 1997, č. 12, s. 2617—2622.
- Zhao B., Ehringer W.D., Dierichs R., Miller F.N.:** Oxidized low-density lipoprotein increases endothelial intracellular calcium and alters cytoskeletal f-actin distribution. Europ. J. Clin. Invest., 27, 1997, č. 1, s. 48—54.

Do redakcie došlo 20.8.1998.