

UKAZATELE CÉVNÍHO POŠKOZENÍ A ATEROSKLERÓZY I

08 ÚS Možný mechanismus regulace proinflamačního stavu tukové tkáně

Poledne R¹, Malínská H², Paukner K¹, Kauerová S¹, Bartušková H¹, Muffová B¹, Králová Lesná I¹

¹Laboratoř pro výzkum aterosklerózy CEM IKEM, Praha

²Laboratoř patofyziologie diabetu CEM IKEM, Praha

Úvod: V posledních letech jsme ukázali, že proporce proinflamačních makrofágů (PIM) v lidské tukové tkáni vzrůstá s koncentrací LDL-cholesterolu a remnantních částic. Současně souvisí se složením mastných kyselin fosfolipidů celulární membrány, roste s přítomností nasycených mastných kyselin a palmitoleátů a klesá s rostoucím zastoupením omega-3 mastných kyselin. **Cíl:** V předkládaném experimentu jsme analyzovali 63 tukových tkání živých dárců ledvin separovaných na adipocyty a stroma vaskulární frakci (s makrofágy) pro analýzu možného regulačního kroku v jedné či druhé frakci. **Metodika:** Viscerální a perivaskulární tuková tkáň získaná peroperačně byla rozložena kolagenázou a adipocyty a stroma vaskulární frakce byly odděleny. Obě části byly uchovány v -80° C a analyzovány ve 2 částech na složení mastných kyselin plynovou chromatografií. Proporce PIM byla stanovena průtokovou cytometrií (CD14⁺, CD16⁺, CD36^{high}). **Výsledky:** Vliv mastných kyselin na proporcii PIM jsme našli pouze ve frakci adipocytů, podobně předchozím výsledkům v celé tukové tkáni. Proporce PIM vzrůstala s vyšší přítomností nasycených mastných kyselin a klesala s omega-3 mastnými kyselinami (i když výsledky nebyly tak zřetelné jako v celé tukové tkáni). Naopak v makrofázích tukové tkáně se žádný vliv mastných kyselin neprojevil. Výjimkou je změna v zastoupení palmitátu. Proporce palmitátu v celulární membráně makrofágů výrazně klesala s rostoucí proporcí PIM, a to jak ve viscerální, tak v perivaskulární (kolem arterie renalis) tukové tkáni. **Závěr:** Naše vysvětlení těchto nálezů předpokládá, že adipocyty tvoří pouze vhodné prostředí (složení mastných kyselin ovlivňuje proporcii PIM stejně jako v předchozích experimentech) pro možné regulační kroky. Vlastním regulačním krokem jsou pak změny v celulární membráně rezidenčních makrofágů. S rostoucí koncentrací cholesterolu v LDL a remnantech vzrůstá transport volného cholesterolu do celulární membrány, což uvolňuje menší prostor pro fosfolipidy s kyselinou palmitovou a její přítomnost klesá. Zda je regulace dána transportem volného cholesterolu či nižší proporcí kyseliny palmitové (konečným produktem de novo syntézy mastných kyselin v tukové tkáni), nelze z našich výsledků posoudit.

09 ÚS Psoriáza a kardiometabolické komorbidity

Lomicová I¹, Cetkovská P¹

Dermatovenerologická klinika LF UK a FN Plzeň

Úvod: Pacienti s psoriázou bývají častěji postiženi metabolickým syndromem, jehož výskyt přímo koreluje s tíží lupénky a kardiovaskulárními příhodami, které následně vedou ke zkrácení délky života nemocných. Současné odborné práce také předpokládají, že včasné rozpoznání a léčba metabolického syndromu zabrání nejen rozvoji kardiovaskulárních onemocnění, ale mohou zlepšit i závažnost psoriázy. Screening příslušných rizikových faktorů je u pacientů s lupénkou však nedostatečný a také chybí přesně stanovená doporučení pro pravidelné sledování a léčbu metabolických komorbidit u těchto nemocných. **Soubor a metodika:** Do našeho sledování bylo začleněno 268 pacientů s lupénkou, kteří dobrovolně odevzdali dotazník ve 2letém sledovacím období (12/2014–11/2016) a všichni pacienti Dermatovenerologické kliniky FN Plzeň sledovaní v Centru biologické léčby od jeho vzniku k datu exportu (2005–2022), tedy 141 pacientů. **Výsledky:** Dotazníkové šetření prokázalo nadváhu nebo obezitu u 74 % všech dotazovaných mužů a téměř 60 % žen, s průměrným BMI celého souboru 28,7. U pacientů z plzeňského Centra biologické léčby byla průměrná hodnota BMI 30,1 a nadváhou či obezitou trpělo 80 % mužů a 74 % žen. Arteriální hypertenze, která v dotazníkovém souboru postihovala více než 20 % respondentů a ve skupině pacientů léčených biologiky 37 % nemocných, byla po psoriatické arthropatii druhou nejčastější komorbiditou v obou hodnocených souborech. Dále 22 % pacientů z plzeňského Centra biologické léčby trpí dyslipidemií, 12 % má diagnostikovaný diabetes mellitus a 30 % pacientů jsou aktivní kuřáci. **Závěr:** Na podkladě konkrétních dat z naší klinické praxe jsme na uvedených souborech pacientů potvrdili a prokázali v posledních letech známou asociaci lupénky s kardiometabolickými komorbiditami. Pacienti se závažnou psoriázou vyžadují pečlivý monitoring ve spolupráci s dalšími specialisty a praktickými lékaři. Vzhledem k aktuální absenci organizace screeningové péče o tyto nemocné dává naše práce podnět a návrh ke konkrétním doporučeným vyšetřením, která by mohla předcházet rozvoji popsaných přidružených onemocnění a významně tak zvýšit kvalitu života pacientů.

10 ÚS Polarizace makrofágů jako součást vývoje rizikového aterosklerotického plátu

Muffová B^{1,2}, Kauerová S¹, Bartušková H^{1,2}, Kollár M³, Paukner K^{1,2}, Froněk J⁴, Čermáková H⁴, Poledne R¹, Králová Lesná I^{1,5}, Piřha J^{1,6}

¹Laboratoř pro výzkum aterosklerózy CEM IKEM, Praha

²Katedra fyziologie, Přírodovědecká fakulta UK, Praha

³Pracoviště klinické a transplantační patologie IKEM, Praha

⁴Klinika transplantační chirurgie IKEM, Praha

⁵Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny 1. LF UK a ÚVN – Vojenská fakultní nemocnice Praha

⁶Klinika kardiologie IKEM, Praha

Úvod: Aterosklerotické pláty v karotických tepnách jsou nejčastěji příčinou cerebrovaskulárního onemocnění (CVO). Přestože je potenciální nestabilita aterosklerotického plátu zásadním rizikem pro komplikace CVO, nebyly dosud objasněny faktory ovlivňující tento typ progresu aterosklerotické léze. V rámci této pilotní práce jsou identifikovány subpopulace makrofágů cévní stěny. Společně s klinickými daty včetně detailního ultrasonografického vyšetření tato data umožní identifikovat imunitní děje spojené s progresí aterosklerotického onemocnění. **Metodika:** Vzorky a. renalis (n = 24) získané v průběhu transplantace ledvin od živých dárců ledvin a aterosklerotické pláty odebrané při endarterektomii z a. carotis (n = 48). Klinická data byla od pacientů získána pomocí cíleného dotazníku. Aterosklerotický plát (po odstranění kalcifikovaného jádra a po odebrání vzorků pro imunohistochemické analýzy) byl enzymaticky rozložen působením kolagenázy, opakovaně přečištěn a jednotlivé subpopulace imunocytů byly identifikovány průtokovou cytometrií. Vzorky a. renalis byly identicky zpracovány celé. Pro oddělení makrofágů byly využity znaky CD45 a CD14, pro definici polarizace pak CD16 a CD36. **Výsledky:** Byly prokázány významné rozdíly v zastoupení subpopulací makrofágů mezi zdravou cévou a aterosklerotickým plátem. Zcela zásadní rozdíl byl patrný již při základním rozdělení na základě exprese znaku CD16, v aterosklerotickém plátu bylo oproti zdravé cévě vysoce významně vyšší zastoupení prozánětlivých makrofágů exprimujících znak CD16, tj. $30,16 \pm 14,51\%$ vs $54,55 \pm 19,46\%$; $p < 0,0001$. V plátu byla také identifikována subpopulace s velmi vysokou expresí tohoto znaku, tj. CD16^{high} ($10,71 \pm 10,50\%$), která se ve zdravé cévě nevyskytovala. Při detailnější analýze byly sledovány rozdíly v expresi znaku CD36, ve zdravé cévě byl tento znak exprimován slabě na všech identifikovaných makrofázích. V plátu dochází k polarizaci makrofágů spojené jak se ztrátou exprese tohoto znaku (CD36; CD16⁻CD36⁻ $13,83 \pm 11,54\%$), tak k jeho vysoké expresi (CD36^{high}), a to výhradně na buňkách pozitivních na znak CD16. Zastoupení CD36^{high} buněk vůči znakům CD16⁺ a CD16^{high} je: CD16⁺CD36^{high} $12,44 \pm 11,02\%$, resp. CD16^{high}CD36^{high} $8,968 \pm 7,302\%$. **Závěr:** Výsledky prokázaly polarizaci subpopulací makrofágů v cévní stěně jako průvodního jevu rizikového vývoje aterosklerotického plátu. Tato polarizace je spojená a nárůstem exprese znaku CD16 a změnami exprese CD36.

11 ÚS Histopatologické markery jako prediktory progresu aterosklerotických plátů: pilotní výsledky

Kollár M¹, Muffová B², Bartušková H², Paukner K², Čermáková H³, Králová Lesná I², Froněk J³, Piřha J²

¹Pracoviště klinické a transplantační patologie IKEM, Praha

²Laboratoř pro výzkum aterosklerózy CEM IKEM, Praha

³Klinika transplantační chirurgie IKEM, Praha

Úvod: Zánětlivé buňky imunitního systému sehrávají důležitou roli v procesu aterosklerózy. Ukazuje se, že nepostižená cévní stěna má kromě základní funkce endotelu zásadní vliv také na vývoj plátu, a to produkcí látek, které ovlivňují přítomnost zánětlivých buněk ve stěně cévy. **Cíl:** (1) Posoudit imunohistochemické markery v aterosklerotických plátech a kvantifikovat jejich přítomnost ve vztahu k rozsahu postižení cév jednotlivými pláty. (2) Porovnat histopatologické markery ve vyvinutých aterosklerotických plátech s makroskopicky nepostiženou okolní stěnou. **Metodika:** Pilotní probíhající monocentrická a prospektivní studie zaslepená patologem. Všichni pacienti podstoupili sonografické vyšetření karotických arterií a někteří podstoupili specializované ultrasonografické vyšetření pro detailní účely studie. Pacienti, kteří splňovali kritéria, byli indikováni k endarterektomii. Tkáňové vzorky získané endarterektomií byly rozděleny na centrální část s aterosklerotickým plátem a okolní, makroskopicky nepostiženou stěnu, tzv. raménko cévy. Všechny vzorky byly pro účely histopatologie fixovány v 10% roztoku formalínu. Následně u nich bylo provedeno standardní barvení hematoxylinem-eozinem a imunohistochemický průkaz subtypizace T-lymfocytů (CD3⁺) a B-lymfocytů (CD20⁺), průkaz makrofágů (CD68⁺) a hladkosvalového aktinu pro detailní posouzení tloušťky stěny a přesnou lokalizaci zánětlivých buněk. **Výsledky:** Endarterektomii podstoupilo celkem 54 pacientů (průměrný věk 69,4 let) z toho 18 žen (69,25 let) a 36 mužů (69,52 let). **Histopatologické hodnocení:** Celkem 7 pacientů nemělo adekvátní vzorek. Všichni pacienti měli fibroateromový nebo fibrózní plát, kalcifikace byla přítomna u 85 % pacientů (40/47). T-lymfocyty dominovaly u 90 % pacientů s aterosklerotickým plátem, v hot-spotu bylo de-

tekováno 80 lymfocytů (400násobné zvětšení); celkový počet buněk v jedné cévě byl v rozmezí 15–500. Zbýlých 15 % pacientů mělo dominantní subpopulaci makrofágů (v hot-spotu 60) nebo B-lymfocytů (v hot-spotu 50). Zánětlivé buňky byly zastíženy i v rámci nepostížených částí cév. **Závěr:** Pilotní data naší studie potvrzují akumulaci imunocytů v aterosklerotických plátech, přičemž dominantní je populace T-lymfocytů, a to zejména v oblastech s pokročilejším aterosklerotickým procesem. Naše výsledky také naznačují, že makroskopicky intaktní arteriální stěna zřejmě hraje důležitou roli ve vývoji aterosklerotických plátů.

12 ÚS Eozinofilní granulocyty v lidské tukové tkáni

Paukner K¹, Bartušková H¹, Froněk J², Kauerová S¹, Muffová B¹, Poledne R¹, Králová Lesná I¹

¹Laboratoř pro výzkum aterosklerózy CEM IKEM, Praha

²Klinika transplantační chirurgie IKEM, Praha

Úvod: Význam eozinofilních granulocytů pro regulaci metabolické homeostázy tukové tkáně byl prokázán na animálním modelu, nicméně data získaná na modelu lidském jsou velmi sporadická. Eozinofilní granulocyty jsou významným zdrojem interleukinu 4 (IL4), cytokinu pravděpodobně hrajícího roli v zachování rovnováhy metabolismu inzulínu a glukózy a nezbytného pro M2-polarizaci makrofágů. Obézní tuková tkáň bývá sdružena s rozvojem subklinického zánětu a v tomto případě představuje M2-polarizace zásadní faktor napomáhající zachování fyziologického stavu. Tento projekt navazuje a rozšiřuje dosavadní poznatky o významu mechanismů vrozené imunity v aterogenezi studovanými naší laboratoří. **Metody:** Předoperačně byla zjištěna přítomnost kardiovaskulárních rizikových faktorů v anamnéze pacienta a byla odebrána nesrážlivá krev (EDTA). Viscerální tuková tkáň byla získána peroperačně během nefrektomie od žijícího dárce v programu realizovaném v IKEM. Ze získané neadipocytární buněčné stromovaskulární frakce a plné krve byly pomocí průtokové cytometrie identifikovány leukocyty (CD45⁺) a následně populace eozinofilů (CD14⁻ CD15⁺ CD16⁻) a makrofágů (CD14⁺). V rámci populace makrofágů byly určeny protizánětlivé (CD16⁻ CD36^{low}) a prozánětlivé, metabolicky aktivované (CD16⁺ CD36^{high}) subpopulace. **Výsledky:** Do studie bylo zařazeno 53 živých dárců ledvin. Zastoupení eozinofilních granulocytů bylo porovnáno v různých typech tukové tkáně a v krvi. Podíl eozinofilů ve visceralní tukové tkáni signifikantně rostl spolu se zvyšujícím se počtem protizánětlivých (M2) makrofágů. Opačný trend byl pozorován ve vztahu k metabolicky aktivovaným makrofágům. Podíl eozinofilů v perivaskulární tukové tkáni také signifikantně rostl spolu se zvyšujícím se počtem M2-makrofágů, ale vztah k M1 nebyl pozorován. Dále podíl eozinofilů v krvi signifikantně rostl s podílem M2-makrofágů v tukové tkáni. Vliv kouření, hypertenze, sérového cholesterolu, BMI na zastoupení eozinofilů v tukové tkáni nebyl pozorován. **Závěr:** Studie přináší zcela nová pilotní data popisující zastoupení eozinofilů v lidské tukové tkáni, jejich zapojení do imunitních dějů in situ. Prokázaná pozitivní korelace počtu eozinofilů a M2 makrofágů v lidské tukové tkáni zdravých jedinců spolu s dalšími výsledky nepřímo potvrzuje paradigma o pravděpodobném významu eozinofilních granulocytů pro udržení homeostázy metabolismu tukové tkáně.