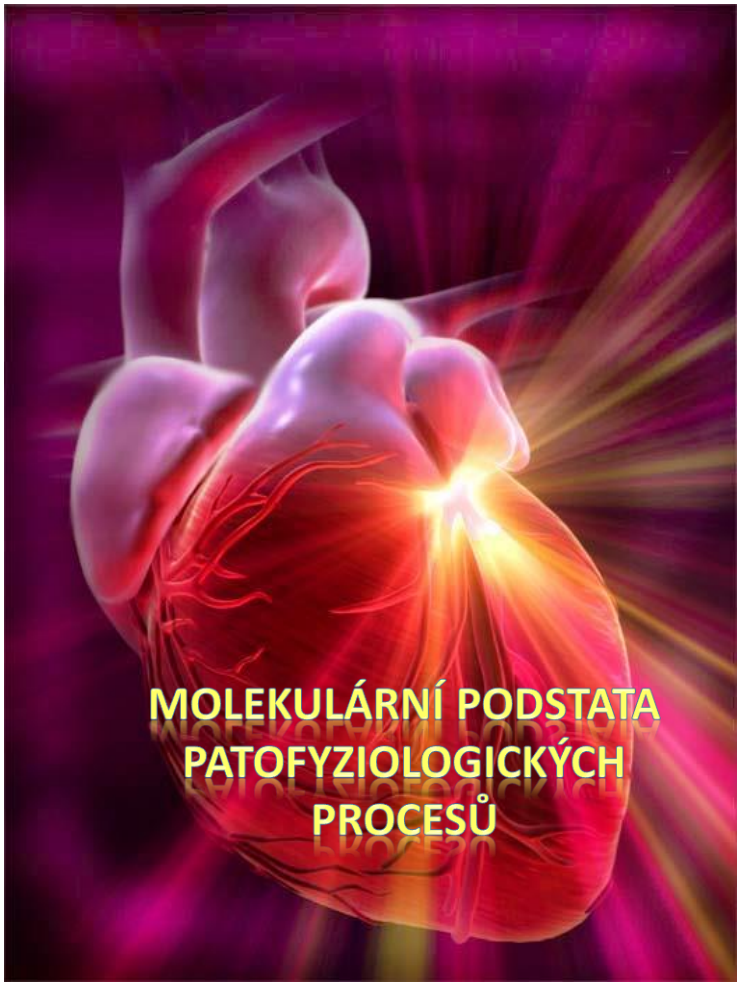
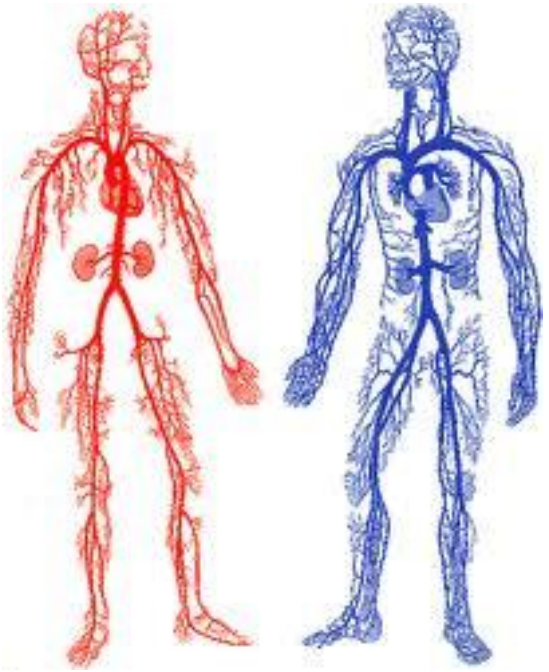
PATOFYZIOLOGIE KARDIOVASKULÁRNÍHO SYSTÉMU

MGR. PETRA BOŘILOVÁ LINHARTOVÁ



Patofyziologie kardiovaskulárního systému

- Patofyziologie srdce a cévního systému
- Poruchy srdečního rytmu
- Poruchy tlaku krve
- Nemoci periferních cév



Kardiovaskulární systém

Kardiovaskulární systém = oběhová soustava

- srdce
- tepny
- vlásečnice
- žíly
- krev

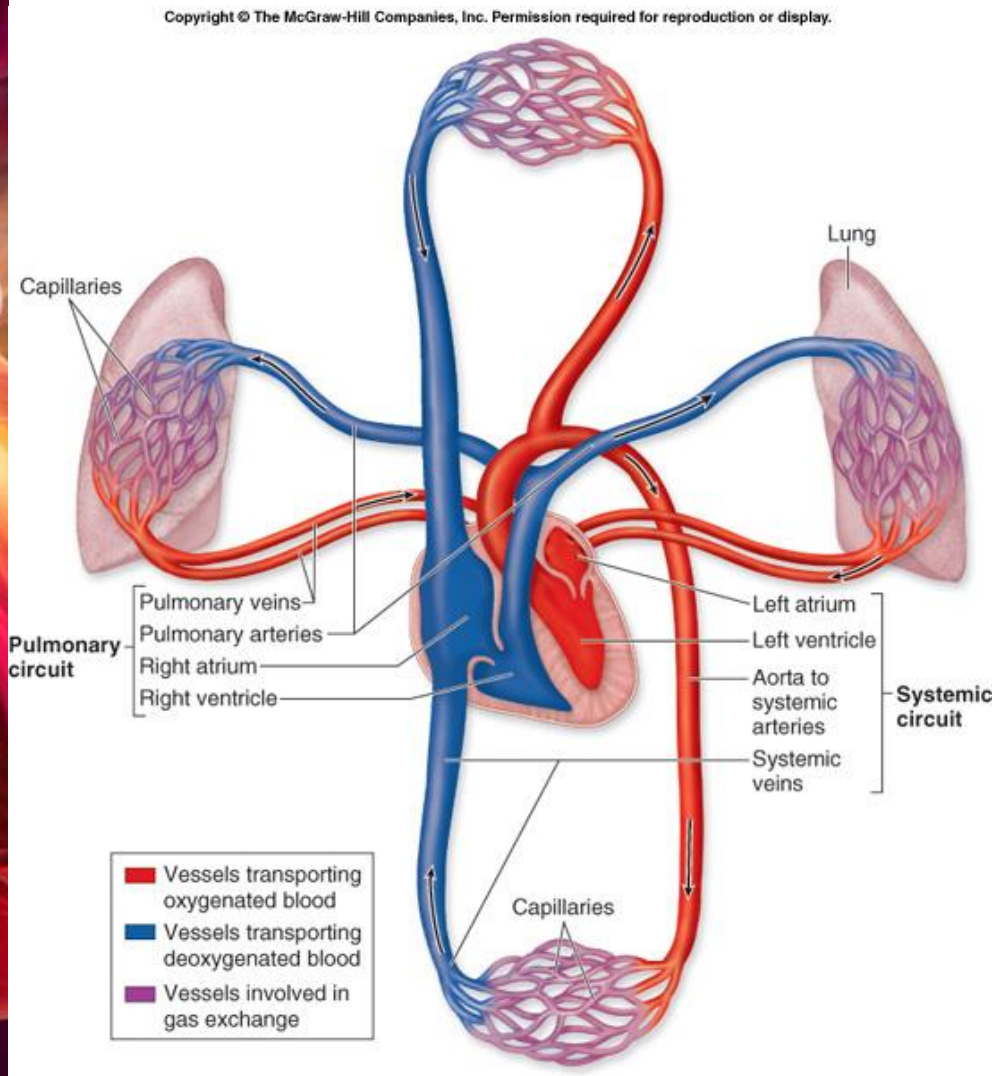
Fce

- transport živin, plynů a odpadních látek z tkání nebo do tkání

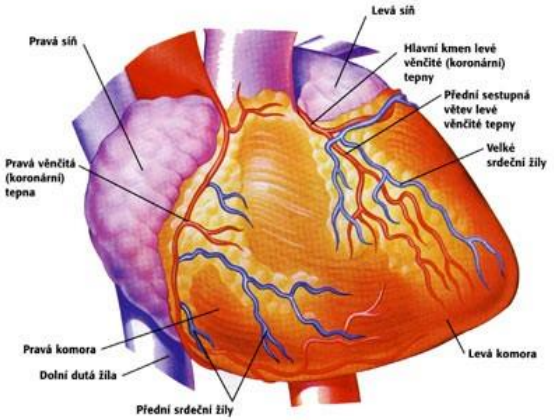
- transportním médiem je krev
- člověk a ostatní obratlovci mají uzavřenou oběhovou soustavu

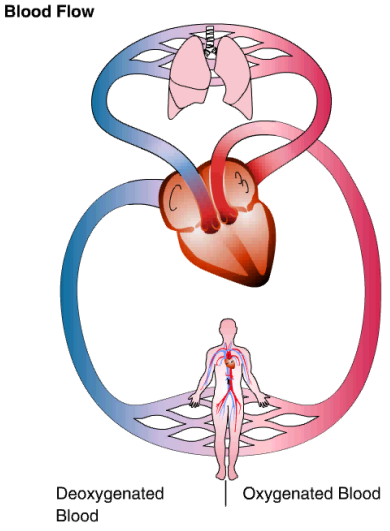
Krevní oběh

malý a velký krevní oběh



koronární oběh





Krevní oběh

- dva oddělené okruhy
  - malý (plicní) oběh je poháněn pravou komorou srdeční
  - velký (systémový) oběh levou komorou

- tlak v plicním oběhu je 4 – 5 krát nižší než v oběhu systémovém

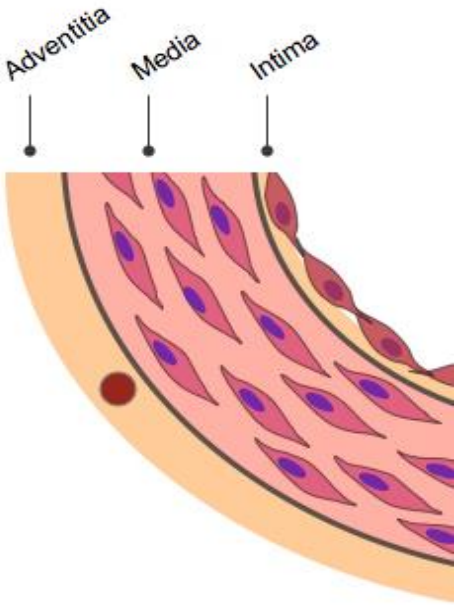
- objem krve, který je za časovou jednotku přečerpán malým a velkým oběhem, je stejný = minutový objem srdeční

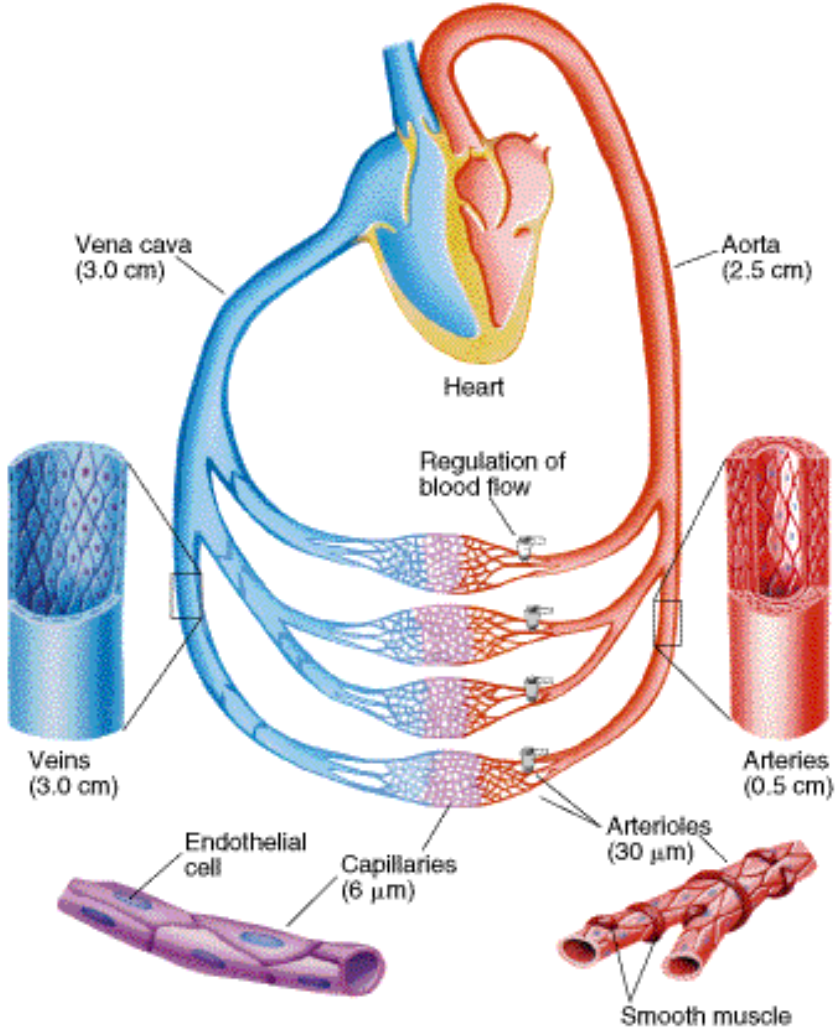
- srdeční výdej je určen velikostí systolického tepového objemu (objem krve vypuzené během jedné srdeční kontrakce) a tepovou frekvencí

- srdce pracuje jako tlakové čerpadlo. Na jeho výkonu se podílí **složka statická**: překonání tlakového rozdílu mezi komorou a tepnou, a **složka kinetická**: udílí zrychlení vypuzenému množství krve.

Cévní systém

Cévní stěna

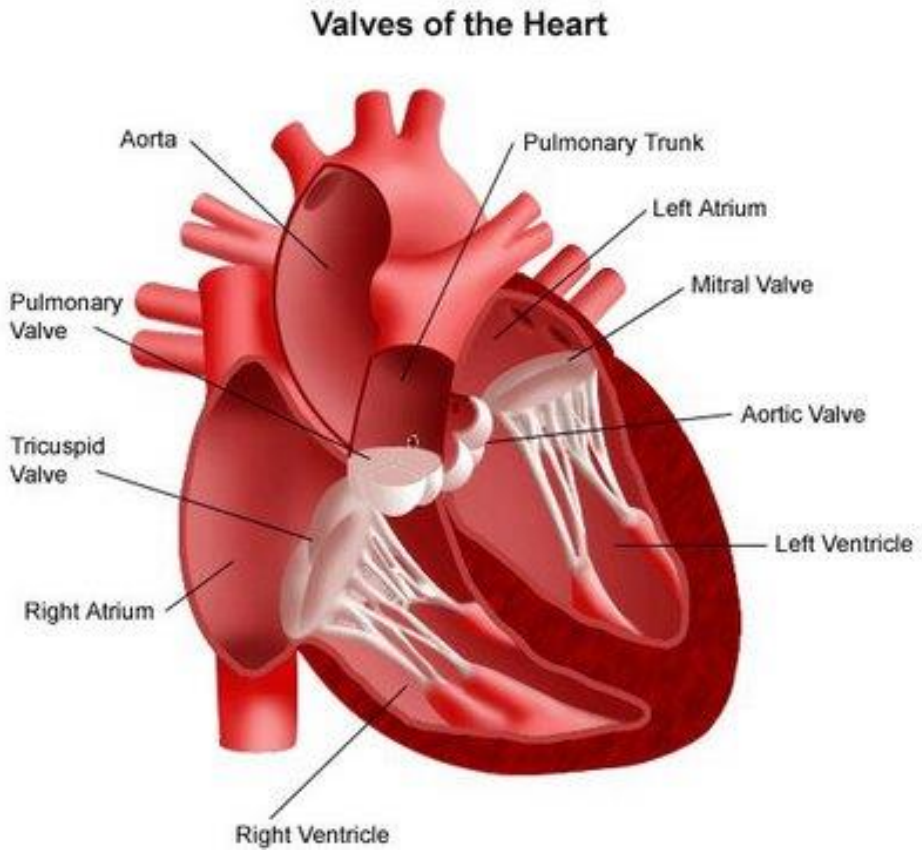




Cévní systém

Chlopně

- v srdci – cípaté a poloměsíčité
- v žílách (varixy, tromby, embolie)
- v lymfatických cévách



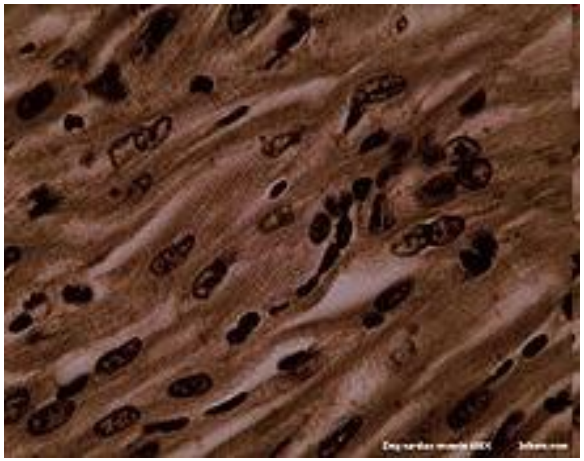
Srdce

- dutý orgán, jehož stěny tvoří srdeční svalovina = speciální forma příčně pruhovaného svalstva, které je v trvalé aktivitě
- pravidelnými kontrakcemi zajišťuje neustálý oběh krve a mízy v organismu
- metabolizmus srdeční svalové buňky je převážně vázán na oxidační pochody
- zdrojem energie pro srdeční činnost jsou mastné kyseliny, laktát, glukóza a v menší míře i aminokyseliny

Srdce

Kardiomyocyty - srdeční svalová vlákna

- obsahují jedno nebo dvě centrálně umístěná ovoidní jádra, mitochondrie a glykogenová granula
- v cytoplazmě kardiomyocytů (sarkoplazmě) je rovněž uložen myoglobin
- sarkoplazmatické retikulum tvořené soustavou váčků a cisteren je zásobárnou Ca^{2+} iontů



Srdce

Myokard

- srdeční svalovina = syncytium (soubuní) - jednotlivé svalové buňky jsou propojeny plazmatickými můstky
- buněčná jádra jsou uložena centrálně (jako u svalů hladkých), v myofibrilách je patrné příčné pruhován (jako u svalu kosterního)
- tloušťka stěny jednotlivých srdečních dutin je rozdílná (nejmohutnější v levé komoře)
- kromě svalových vláken, jejichž hlavní funkcí je kontrakce, lze v myokardu rozlišit i svalovou tkáň specializovanou na tvorbu a přenos vzruchů = vodivá soustava srdeční

Srdce

Myokard

- **Automacie** (chronotropie) = schopnost vytvářet vzruchy. Výsledkem vzruchové aktivity je sled pravidelných rytmických srdečních stahů i bez vnějšího podráždění

- **Vodivost** (dromotropie) = vzruch se přenáší na celou srdeční jednotku (síně a komory), čímž je zajištěn synchronní stah všech svalových vláken

- **Dráždivost** (bathmotropie) = možnost vyvolat svalový stah dostatečně silným, nadprahovým podnětem. Zatímco podprahový podnět stah nevyvolá, nadprahový podnět různé intenzity vyvolá stejnou odpověď, pokud se dostaví v období, kdy je svalovina schopna na podnět reagovat

- **Stažlivost** (inotropie) = schopnost svalové kontrakce a její závislost na dalších faktorech, např. na výchozím napětí svalového vlákna

Srdce

- v srdečním svalu jsou přítomny tři druhy buněk:

1. „Rychlé buňky" pracovního myokardu - reagují kontrakcí na elektrický signál a rychle vedou elektrický signál – nejčastější typ
2. „Pomalé buňky" - hrají důležitou roli při převodu signálu skrze SA a AV uzel
3. „Pacemakerové buňky" - generují elektrický signál

- spojení mezi dvěma buňkami je tvořeno desmosomy, ionty procházejí přes „gap junctions"

Fce kardiomyocytu

- Systolická fce srdce
- Diastolická fce srdce

Srdce

Kardiomyocyty obsahují 3 propojené systémy:

1. excitační
- účastní se šíření akčního napětí do okolních b. a zahajuje další pochody uvnitř kardiomyocytů

2. spřažení excitace a kontrakce
- mění elektrický signál na chemický

3. kontraktilní
- molekulární motor hnaný ATP

Srdce

1. Mechanismus kardiomyocytární činnosti

- elektrické aktivity srdečního svalu se zúčastňují K^+ (ICT), Na^+ (ECT) a Ca^{2+} (ER, ECT)

Fáze 0 - rychlá depolarizace kardiomyocytu

- při napětí -65 mV se otevírají napětím řízené Na kanály (INa)
- následný vtok Na^+ vede k depolarizaci až do kladných hodnot (cca +40 mV) a uzávěru Na^+ kanálů

Fáze 1 - částečná repolarizace

- podkladem je difúze K^+ specifickými iontovými kanály (Ito – „transient outward")
- K^+ difunduje podle elektrického i chemického gradientu
- zároveň se otevírají Ca „long-lasting" kanály (ICa-L)

Srdce

Fáze 2 („plateau") - protrahovaná depolarizace

- depolarizace udržována influxem Ca^{2+} skrze ICa-L kanály
- na rozdíl od INa nebo Ito, kanál ICa-L je řízen jak napětím, tak receptorovým mechanismem, kterým působí vegetativní nervová signalizace
- Ca^{2+} se váže na ryanodinový receptor sarkoplasmatického retikula, odkud se uvolňuje velké množství Ca^{2+} iontů do cytoplasmy
- Ca^{2+} se dále váže na troponin který následně změní svoji konformaci a přestane blokovat vazbu mezi aktinem a myosinem
- následuje kontrakce svalového vlákna
- otevírá se další „opožděný" typ K^+ kanálu (IK)

- během fází 0-2 jsou buňky srdečního svalu necitlivé k jakémukoli novému elektrickému signálu – refrakterní perioda

Srdce

Fáze 3 – repolarizace

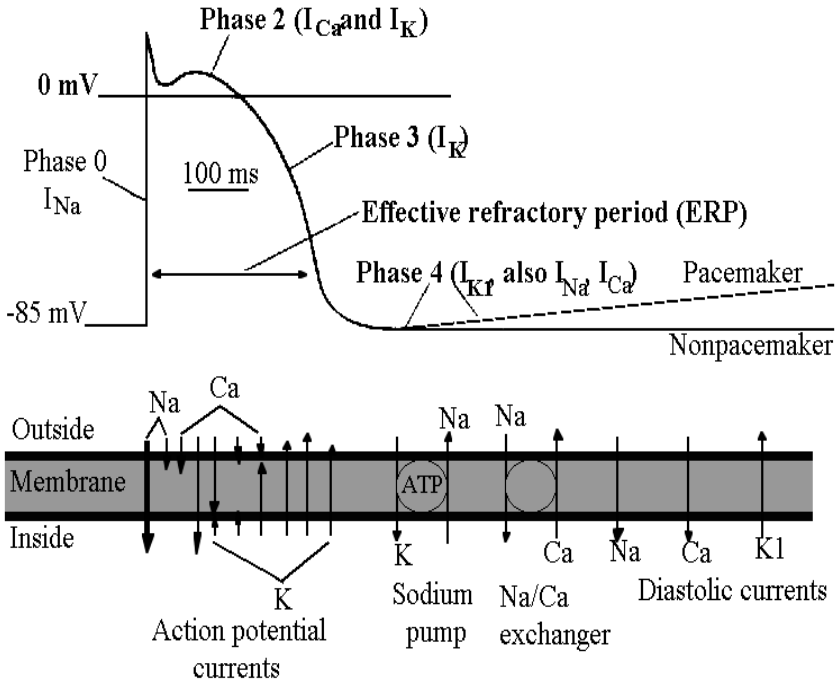
- po uzavření Ca^{2+} kanálu, výtok K^+ sníží napětí v kardiomyocytu ke klidovým hodnotám

- v čase mezi repolarizací a další depolarizací jsou Na^+ ionty pumpovány ven z buňky výměnou za K^+ Na/K ATP-asou (3:2)
- některé Na^+ ionty se vracejí do buňky výměnou za Ca^{2+} prostřednictvím specifického výměníku
- vápník je zároveň aktivně pumpován do sarkoplasmatického retikula
- srdeční sval je ve fázi relaxace

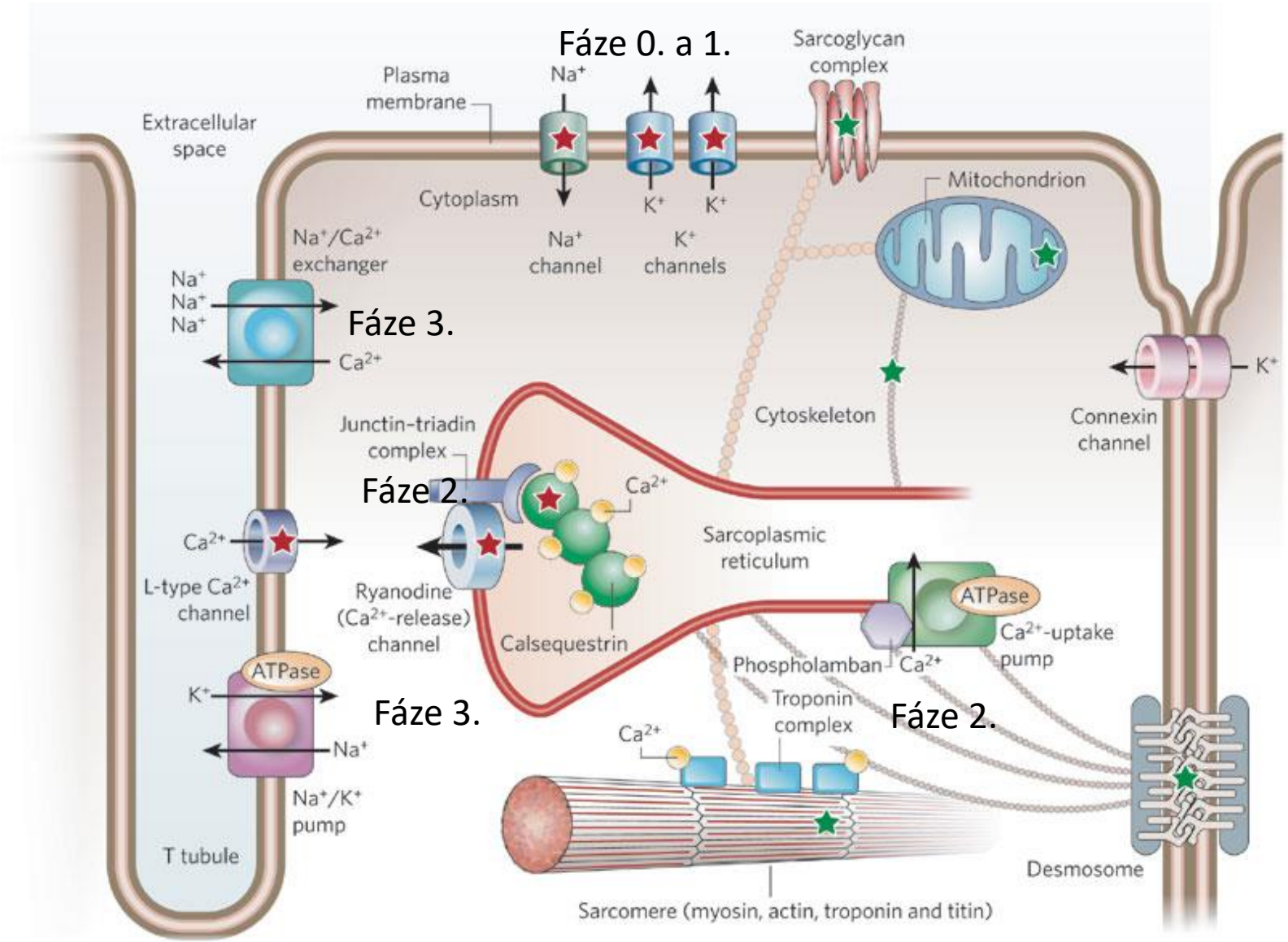
Srdce

Fáze 4 – rychlá depolarizace

- v pacemakerových buňkách zůstává část sodíkových, draslíkových a vápníkových kanálů otevřených i během diastoly, což vede ke kontinuálnímu úbytku negativního napětí až k hodnotám kolem -65mV
- tyto kanály jsou ovlivňovány jak parasympatickým, tak sympatickým nervovým systémem
- pacemakerové buňky se nacházejí v SA uzlu, AV uzlu a Purkyňových vláknech



Srdce

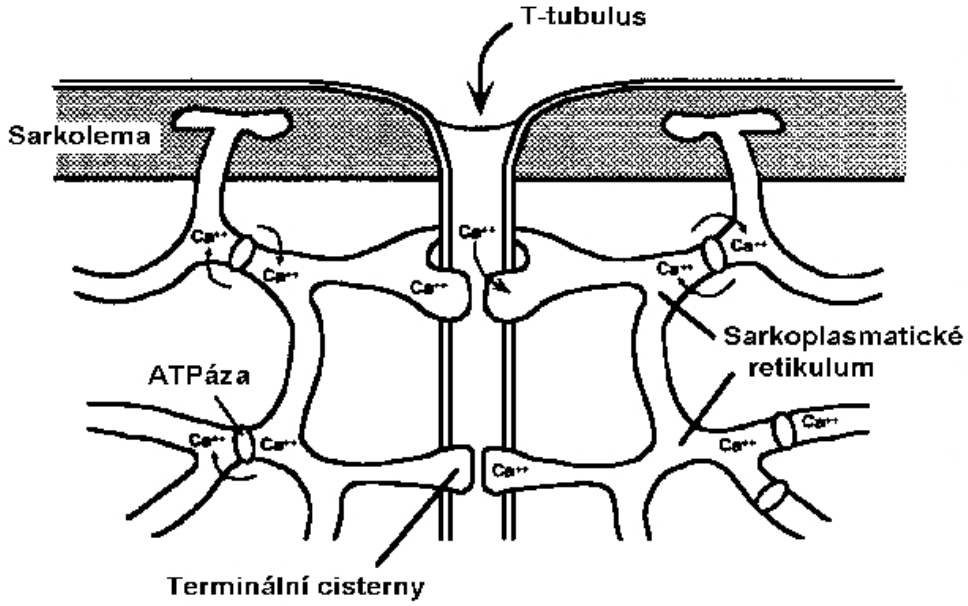

Fáze 0. a 1.
Sarcoglycan complex
Plasma membrane
Na+
Extracellular space
Cytoplasm
Mitochondrion
Na+/Ca2+ exchanger
Na+ channel
K+ channels
K+
K+
Na+
Na+
Na+
Fáze 3.
Ca2+
Cytoskeleton
K+
Connexin channel
Junctin-triadin complex
Fáze 2.
Ca2+
Ca2+
Sarcoplasmic reticulum
L-type Ca2+ channel
Ryanodine (Ca2+-release) channel
Calsequestrin
ATPase
Ca2+-uptake pump
Phospholamban
Ca2+
ATPase
K+
Fáze 3.
Troponin complex
Fáze 2.
Ca2+
Na+
Na+/K+ pump
T tubule
Desmosome
Sarcomere (myosin, actin, troponin and titin)

Srdce

2. spřažení excitace a kontrakce

- elektrochemické spřažení mezi sarkolemou a nitrobuněčnými organelami zajišťuje systém intracelulárních membrán (sarkotubulární systém)

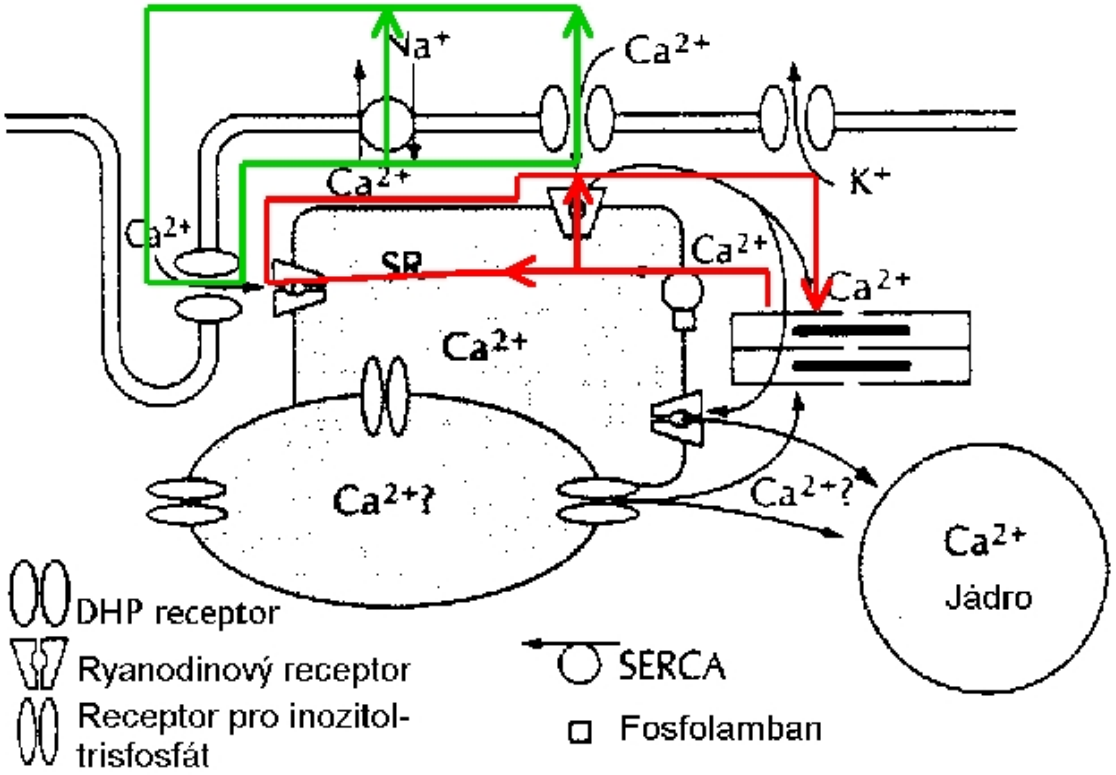
- kaskáda 2 okruhů pohybu Ca iontů, jejichž činností se vyvolá vápníkový hrot v cytosolu, indukující stah myofibril



Srdce

2. spřažení excitace a kontrakce

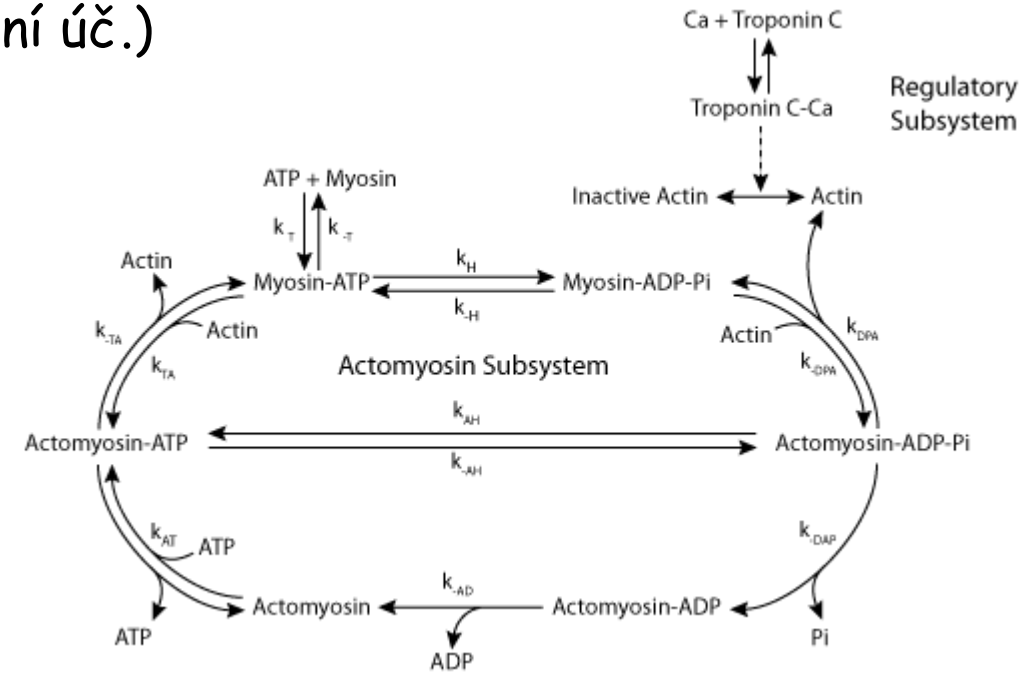
- depolarizace nebo β-adrenergní vliv → otevření dihydropyridinových receptorů (DHP) → Ca^{2+} z tubulů → otevření ryanodinových receptorů → výtok Ca^{2+} ze SR do cytosolu → spuštění kontakce
- Na/Ca antiport vylučuje nadbytečné Ca^{2+} po proběhnutí akčního napětí (důležité v relaxaci)



Srdce

3. kontraktilní systém

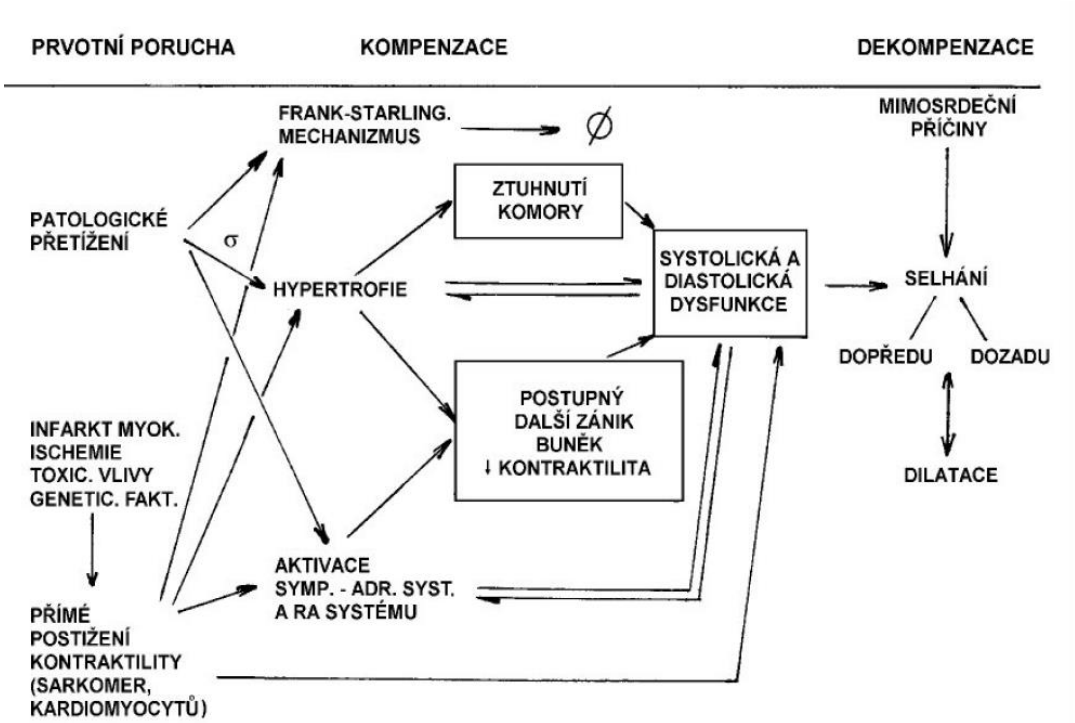
- molekulární motor hnaný ATP
- Ca^{2+} + troponin C - troponin I - vazba můstku na aktin
- β-stimulace → ↑cAMP → ↑PKA (protein kinase A)→ fosforylace a otevření Ca kanálů (DHP) v T-tubulech → Ca/Ca kaskáda → ↑ intracelulární Ca^{2+} → ↑ kontraktilita (ionotropní úč.)



Patofyziologie srdce

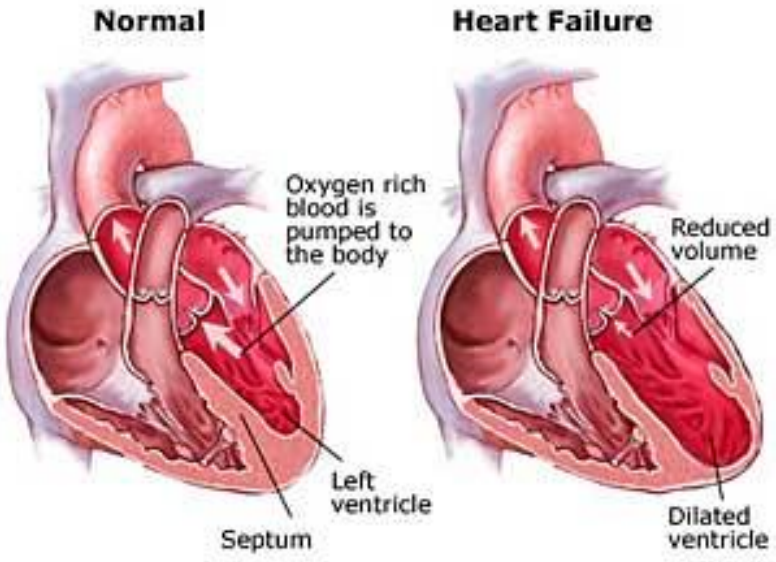
Etiopatogeneze systolické a diastolické dysfunkce LK a srdečního selhání

- systolická dysfunkce – je důsledkem snížené kontraktility
- diastolická dysfunkce – je důsledkem snížené poddajnosti komory
- srdeční selhání - je vyvrcholením dysfunkce komor(y), která v případě chronického selhání se vyvíjí delší dobu. Nejčastěji jde o systolickou dysfunkci, někdy i diastolická dysfunkce (např. hypertrofická kardiomyopatie)



Srdeční selhání

- srdce není schopno zajistit dostatečný srdeční výdej k pokrytí cirkulačních a metabolických potřeb organismu
- klinicky se manifestuje příznaky systémového či plicního žilního městnání v kombinaci s poklesem systémového prokrvení
- po vyčerpání možností adaptačních mechanismů dochází ke kompletnímu zhroucení oběhu
- k rozvoji selhání srdce jsou náchylní zejména novorozenci a kojenci



Srdeční selhání

Akutní srdeční selhání

- náhle vzniká dysfunkce myokardu
- klinické známky selhání s uplatněním aktivace sympatiku (tachykardie, pocení, periferní hypoperfuze a oligurie) a Frankova-Starlingova zákona („energie potřebná na kontrakci je úměrná výchozí délce srdečních vláken“)

Chronické srdeční selhání

- uplatňují se typické kompenzační mechanismy: hypertrofie myokardu, aktivace systému renin-angiotenzin-aldosteron (RAAS)
- dochází ke snížení diurézy s retencí Na a vody, a tím ke zvýšení cirkulujícího objemu

Srdeční selhání

Etiologie

Kardiální příčiny

1. vrozené srdeční vady

- u tlakového přetížení srdeční komory (např. aortální stenóza, syndrom hypoplastického levého srdce atd.)
- u objemové zátěže komory (aortální insuficience atd.),
- systolická dysfunkce komory (mitrální insuficience atd.)
- kombinace uvedených faktorů (společná srdeční komora atd.)
- ischémie myokardu (anomální odstup levé koronární tepny z plicnice)

2 získaná onemocnění srdce

- arytmie (tachydysrytmie, AV bloky)
- kardiomyopatie
- myokarditida
- revmatická horečka (febris rheumatica) a revmatické srdeční onemocnění (dysfunkce chlopní)
- perikarditida
- tumory srdce (rhabdomyosarkom)

Srdeční selhání

Etiologie

Extrakardiální příčiny

- chronická obstrukce dýchacích cest
- těžká anemie, polycytémie
- metabolické vady (glykogenózy, mukopolysacharidózy, deficit karnitinu)
- degenerativní neuromuskulární onemocnění (Duchennova svalová dystrofie)
- cytostatika (doxorubicin, adriamycin)
- endokrinní poruchy (tyreopatie, adrenální insuficience)
- cévní abnormality (AV píštěle, hemangiomy, cévní tumory)
- iatrogenní (rychlé parenterální převody roztoků, zejm. krve a krevních derivátů)

Srdeční selhání

Diagnostika

Echokardiografie

RTG hrudníku

EKG

Laboratorní vyšetření

1. krevní plyny

- objemové přetížení LK s městnáním v plicním řečišti způsobí poruchu ventilace/perfuze a zvýrazní intrapulmonální P-L zkraty → hypoxémie a hyperkapnie

2. krevní obraz a sedimentace ery

- pokles hladiny Hb a hodnot hematokritu svědčí pro retenci tekutiny v organismu
- vysoké hodnoty Hb = dlouhotrvající tkáňová hypoperfuze a hypoxémie
- zánět = sedimentace zvýšená, při chronickém srdečním selhání = sedimentace snížená

Srdeční selhání

Diagnostika

Laboratorní vyšetření

3. Biochemie séra a moči

- hyponatremie dilučního původu při zadržování tekutin v organismu
- hypochloremie - důsledkek vzestupu bikarbonátu a léčby kličkovými diuretiky
- hypokalemie - může být v souvislosti s podáváním kličkových diuretik a sekundárním hyperaldosteronismem, který srdeční selhání provází
- hyperkalemie je naopak důsledkem snížené renální funkce nebo již tkáňového poškození při významně sníženém srdečním výdeji
- zvýšení urey a kreatininu je obrazem významného snížení renálních funkcí

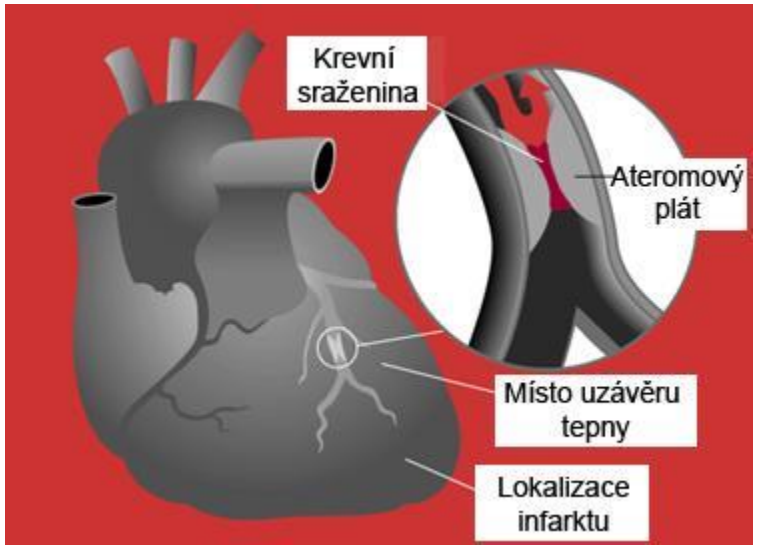
Srdeční selhání

Diagnostika (v rámci VSV v novorozeneckém a časném kojeneckém věku)

- hypoglykémie - projev deplece jaterního glykogenu
- hypokalcemie - přítomna u pacientů se známkami snížení systémové cirkulace
- vysoká osmolalita moči, často albuminurie a erytrocyturie (makroskopická i mikroskopická).
- v důsledku sekundárního hyperaldosteronismu je v moči nápadně nízký odpad Na při vyším odpadu K (poměr odpadu Na/K < 1, resp. U-Na < 10 mmol/l)

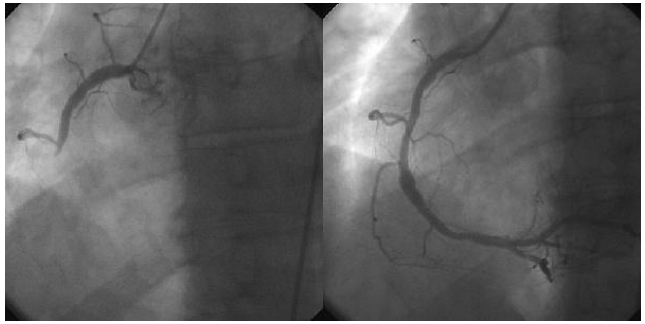
Ischemická choroba srdce

- onemocnění, při kterém se aterosklerotické pláty ukládají v koronárním řečišti, kde jsou příčinou sníženého průtoku krve v srdečním svalu – myokardu
- srdeční sval trpí nedokrevností – ischemií
- klinickým projevem tohoto nepoměru mezi dodávkou a poptávkou kyslíku je bolest na hrudi - angina pectoris (AP)
- finálním stádiem je koagulační nekróza srdečního svalu - infarkt myokardu



Infarkt myokardu

- srdeční mrtvice = je náhlé přerušení krevního zásobování části srdce
- akutní nekróza (smrt) okrsku kardiomyocytů vznikající v důsledku prolongované ischémie



- vyskytuje více u mužů než u žen
- nejvíce ohroženi jsou muži nad 50 let a ženy nad 60 let
- toto onemocnění se však nevyhýbá také mladším lidem, kteří mají nadměrnou srážlivost krve, genetické dispozice či velmi špatnou životosprávu
- spolu s AP jsou ischemickou chorobou srdeční (ICHS), na kterou ročně umírají statisíce lidí

Infarkt myokardu

Etiologie

- příčinou ischémie je náhlý uzávěr koronární tepny nebo její extrémní progredující zúžení:
  - ruptura aterosklerotického plátu s nasedající intrakoronární trombózou (aterosklerotický plát vzniká dlouhodobým ukládáním tukových látek do stěny cévy, podkladem je tedy ateroskleróza)
  - embolizace koronární tepny - vmetek krevní sraženiny, která vznikla v jiném místě cévního řečiště
  - céva může být uzavřena také vzduchovou bublinkou (příhody při potápění)
  - spazmus, arteritida

- následek uzávěru koronární tepny může být zástava oběhu (náhlá srdeční smrt)
- v akutní fázi může nastat také kritické oslabení srdeční činnosti s kardiogenním šokem
- pokud není krevní proud v postižené tepně obnoven do 2 hodin dochází k nevratnému poškození postižené části srdce
- obnovení průtoku krve i po 2 hodinách má však dobré výsledky

Infarkt myokardu

Rizikové faktory

- porucha lipidového metabolismu
- kouření
- hypertenze
- diabetes mellitus
- břišní typ obezity
- psychosociální faktory
- nedostatečná konzumace ovoce a zeleniny
- nedostatečná pohybová aktivita
- nadměrná konzumace alkoholu

Infarkt myokardu

Příznaky

- déletrvající (přes 10 minut) tlaková krutá svíravá bolest v oblasti srdce a hrudní kosti
- bolest neustupuje a je stále silná v jakýchkoli polohách
- typické je vyzařování bolesti do ramene, krku a levé ruky a lopatky
- nadměrné pocení
- úzkost a dušnost
- mohou se také objevit bolesti zad, břicha a čelisti
- většinou se bolest dostavuje náhle, často v klidu nebo ve spánku

Akutní infarkt myokardu

- infarkt, který pacienta přímo ohrožuje na životě
- v koronárních tepnách více uzávěrů nebo se uzávěr nachází v místě nad větvením koronární tepny
- rozsah poškození srdečního svalu mnohem větší

Diagnostika

Komponenta	Mr [Da]	Biologický poločas	Lokalizace v buňce
Kreatinkináza (CK)	86 000	17 h	cytoplazma
• izoenzym MB (CK-MB)	86 000	13 h	
Laktátdehydrogenáza (LD) (především izoenzym LD_1)	135 000	110 h	
Myoglobin	17 800	15 min	
Srdeční troponin T (cTnT) (cytoplazmatická frakce)	37 000	2–4 h	
Srdeční troponin I (cTnI) (cytoplazmatická frakce)	22 500	2–4 h	
Srdeční troponin T (cTnT)	37 000	2–4 h	fibrilární kontraktilní komplex
Srdeční troponin I (cTnI)	22 500	2–4 h	
Aspartátaminotransferáza (AST) (mitochondriální izoenzym)	93 000	34 h	mitochondrie

Akutní infarkt myokardu

Diagnostika

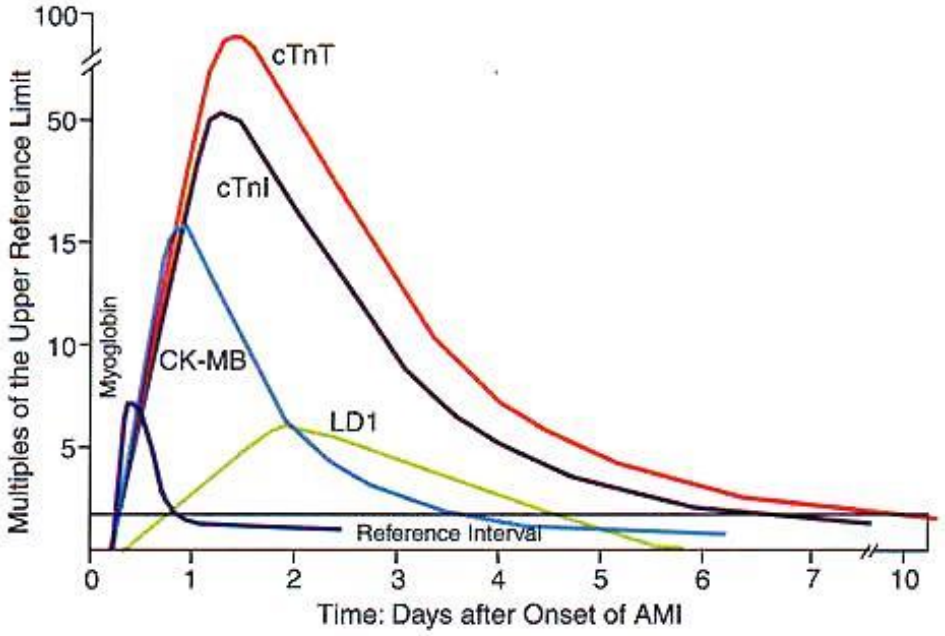


Figure 1. Release of cardiac biomarkers into blood following AMI. Time zero is defined as the moment of onset of symptoms. Marker concentrations are expressed in a common scale—as multiples of the upper reference limit for that marker.[11]

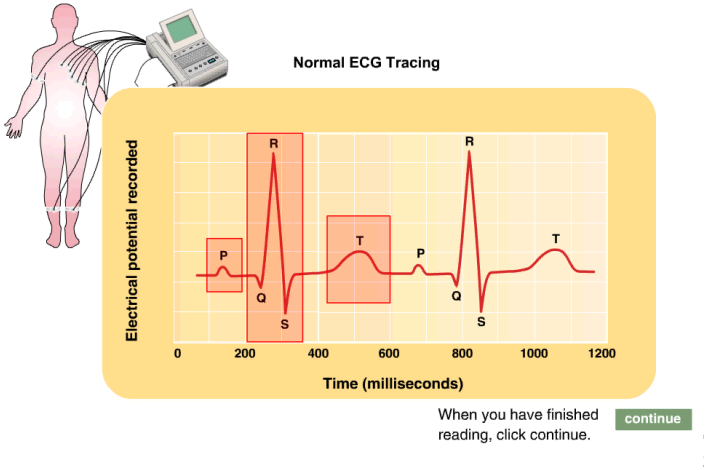
cTnT = cardiac troponin T

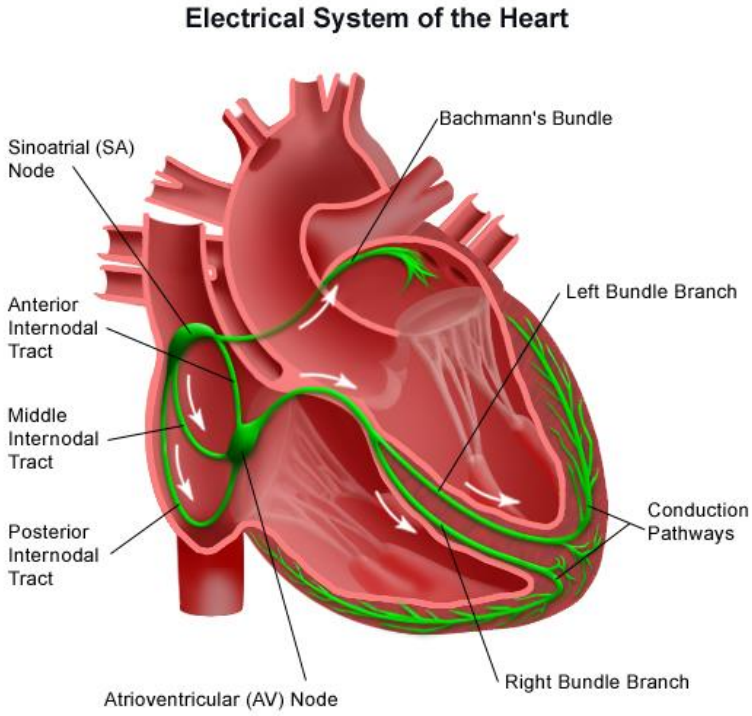
cTnI = cardiac troponin I

Srdce

Převodní systém

- SA – uzel
- internodální síňové spoje
- AV – uzel
- Hisův svazek
- Pravé a levé raménko Tawarovo
- Purkyňova vlákna

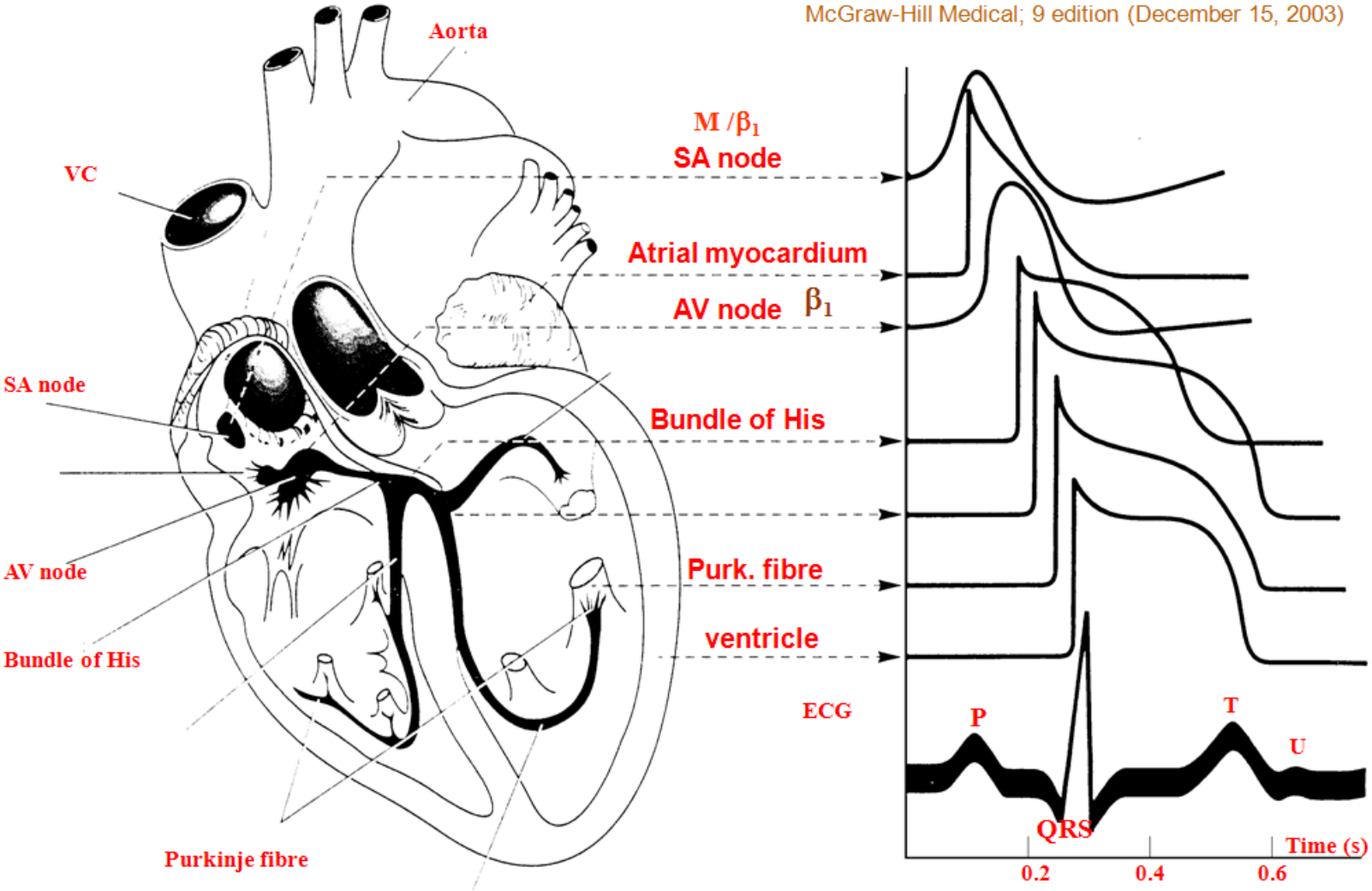




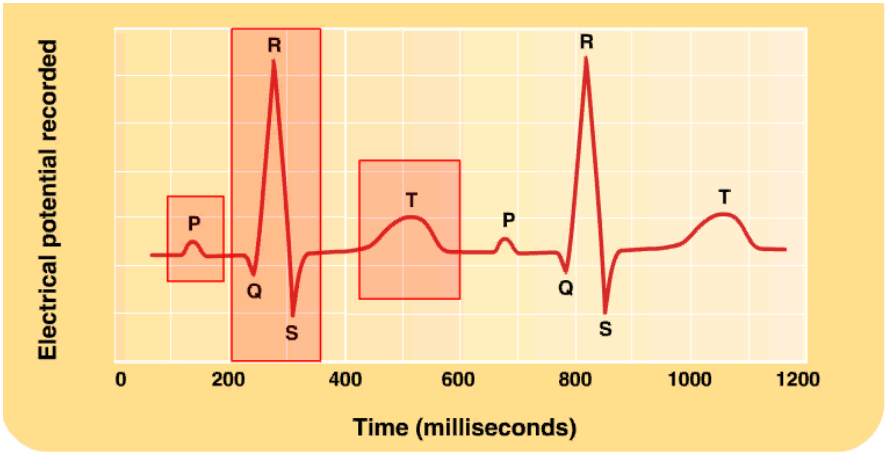
Srdce

Vedení elektrického signálu srdcem

According to Katzung's Basic & Clinical Pharmacology.
McGraw-Hill Medical; 9 edition (December 15, 2003)



EKG



vlna P	obraz elektrické aktivity síní
interval PQ	čas vedení vzruchu AV uzlem
komplex QRS	obraz elektrické aktivity komor
ST segment	mezi koncem QRS komplexu a nástupem T vlny fyziologicky v izoelektrické rovině
vlna T	obraz ústupu elektrického podráždění komor
vlna U	pozitivní či negativní vlna – nekonstantní, většinou nemá klinický význam

EKG

Popis EKG

- rytmus – sinusový, arytmie

- frekvence - norma 60-100/min, tachyarytmie, bradyarytmie

- popis vln, segmentů a intervalů
  - výška a tvar QRS komplexu (hypertrofie srdečních komor, perikarditida, blokády ramének, preexcitace)
  - časové intervaly – PQ, QRS, QT
  - ST segment a vlna T – diagnostika akutních koronárních syndromů

- elektrická osa srdeční

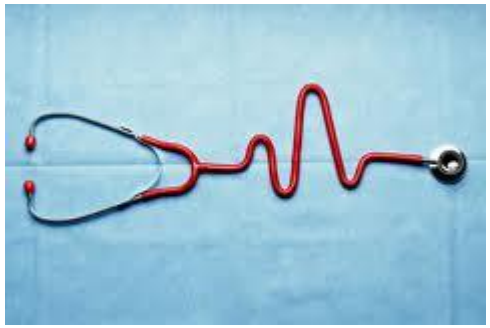
- závěr

Poruchy srdečního rytmu = arytmie

- abnormalita elektrického signálu srdce, jejíž příčinou je porucha

1. vzniku signálu
2. převodu
3. obojího

- arytmie definujeme per exclusionem – tj. každý rytmus odlišný od normálního sinusového rytmu je arytmie (může být i pravidelná)



Arytmie

Etiologie (arytmogenní substrát)

- problémy vegetativního nervového systému (nervová labilita, kompenzace srdečního selhání, šok, úzkost)
- ischémie, hypoxie and reperfúze, změny pH
- iontová nerovnováha
- onemocnění myokardu – hypertrofie, dilatace, amyloidóza, jizva po AIM
- zánět (myokarditis)
- léky (β-blokátory, digitalis, antiarytmika)
- celkový stav (traumata, endokrinopatie...)
- genetické příčiny (mutace genů pro iontové kanály
- aberantní vedení – např. Kentův svazek (WPW syndrom – přídatná dráha mezi síněmi a komorami obcházející AV uzel) – asi u 1% populace, většinou je asymptomatický

Arytmie

Arytmogenní mechanismus

- arytmie vznikají v zásadě na čtyřech principech:

1. Změněná automaticita (závisí hlavně na poklesu membránového napětí ve fázi 4)
2. Re-entry
3. Spouštěná (triggered) aktivita
4. Převodní blokády

Dělení arytmií dle

- frekvence – bradyarytmie / tachyarytmie
- lokalizace – supraventrikulární / ventrikulární
- mechanismu – porucha vzniku / vedení signálu

Arytmie

1. Bradyarytmie

- SA blok
- syndrom nemocného SA uzlu (sick-sinus syndrome)
- AV blokády

2. Tachyarytmie

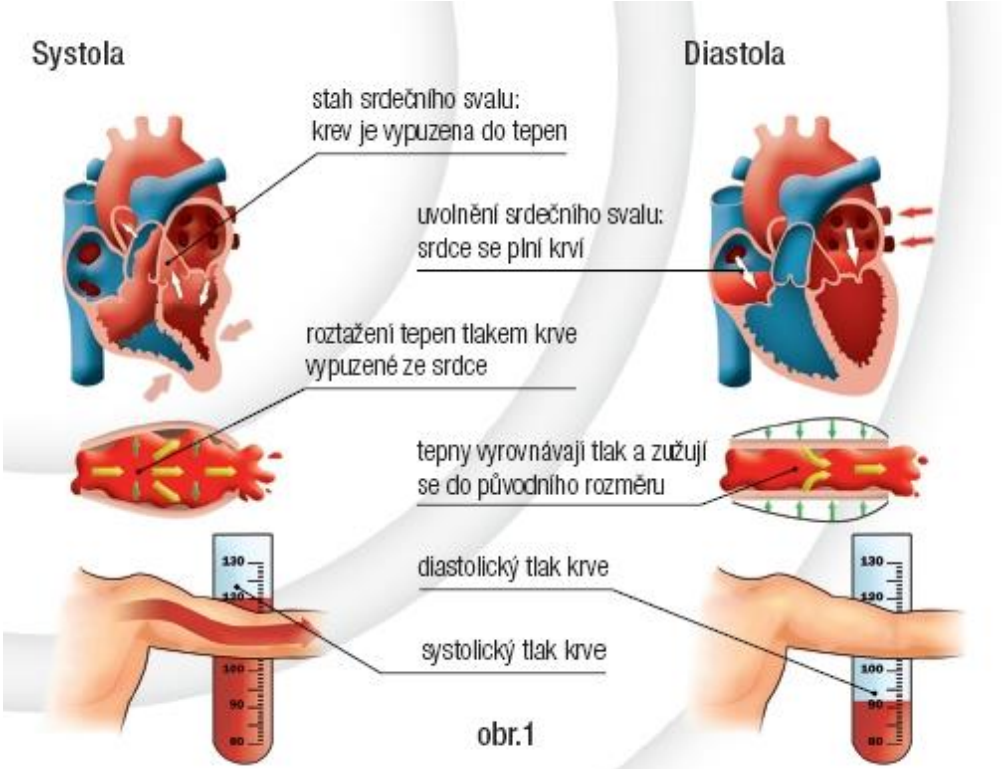
- supraventrikulární
  - SV extrasystoly – atriální, junkční
  - atriální tachykardie, flutter, fibrilace
  - AV nodální re-entry tachykardie (AVNRT)
  - AV re-entry tachykardie (Wolf-Parkinson-White syndrom)

- komorové
  - komorové extrasystoly
  - komorové tachykardie
  - fibrilace komor

Tlak krve

TK je výsledkem působení

- genetických faktorů
- faktoru zevního prostředí
- endogenních regulačních mechanizmů



RAAS

Renin-angiotenzin-aldosteronový systém

- je jedním z hlavních neurohumorálních regulátorů fyziologické homeostázy
- primárním podnětem pro jeho aktivaci je vyplavení reninu z juxtaglomerulárních b., lokalizovaných v medii aferentních renálních arteriol, k tomu může dojít na základě:

1. poklesu průtoku krve aferentní arteriolou (např. hypotenze různé etiologie, stenóza renální arterie)

2. snížení přívodu NaCl do oblasti macula densa distálního tubulu

3. aktivace β_1-adrenoreceptorů v oblasti juxtaglomerulárních buněk

RAAS

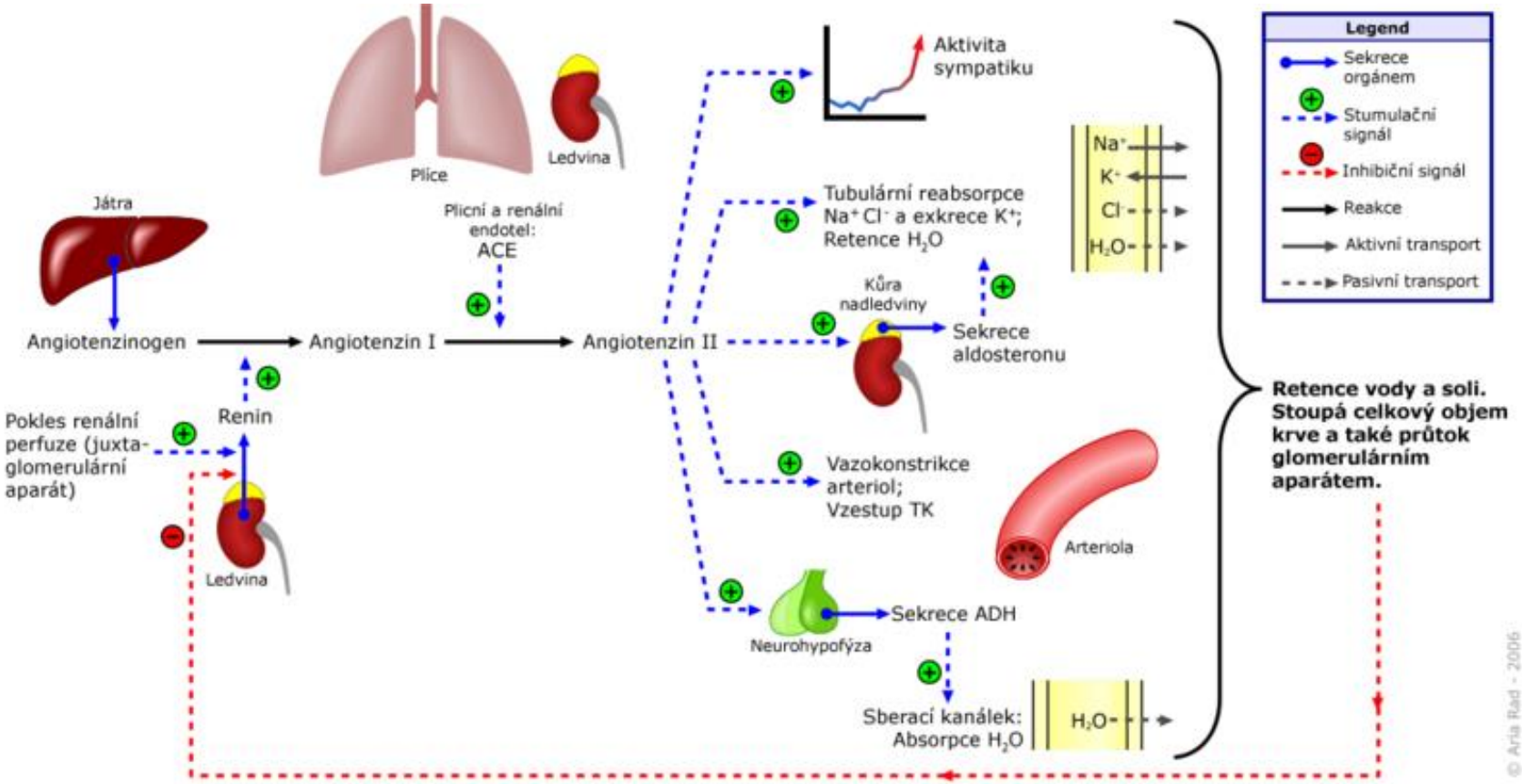
Renin-angiotenzin-aldosteronový systém

- renin má vliv na odštěpení dekapeptidu angiotenzinu I (AGI) z angiotenzinogenu
- z AGI je následně angiotenzin-konvertujícím enzymem (ACE) odštěpen histidin a leucin v pozici 9 a 10 → oktapeptid angiotenzin II (AGII)
- ACE katalyzuje rovněž inaktivaci bradykininu (lokální tkáňový hormon - vazodilatace a zvýšení vaskulární permeability)

- sekrece reninu je stimulována prostaglandiny (PGI2, PGE2) a inhibována β-blokátory

RAAS

Renin-angiotenzin-aldosteronový systém



Hypertenze

Sekundární (5 %)

- ↑ TK je symptomem jiného primárního onemocnění

1. renální
2. endokrinní

- prim. hyperaldosteronismus
- feochromocytom
- Cushingův syndrom
- akromegalie

3. monogenní formy hypertenze

- mutace genů ovlivňujících hospodaření s Na

Esenciální (95 %)

- známe mnoho patogenetických mechanizmů, ale ne vlastní etiologickou příčinu
- v ledvině

Esenciální hypertenze

Kritéria

- TK ≥ 140/90 mmHg u dospělého bez ohledu na věk v klidu (> 10 min) opakovaně min. 2× ze 3 měření v odstupu několika dní
- u diabetiků a chronického selhání ledvin by měl být tlak <130/80 mmHg

Stupeň

- mírná 140 – 179/90 – 104
- středně závažná 180 – 199/105 - 114
- těžká ≥ 200/115
- izolovaná systolická hypertenze STK >160 při DBP <90 mmHg
- rezistentní ≥140/90 při kombinaci 3 antihypertenziv

Stádia

- I – prosté zvýšení TK bez orgánových změn
- II – hypertrofie LK, mikroalbumin-/proteinurie, kalcifikace aorty
- III – srdeční selhání, renální insuficience, CMP

Esenciální hypertenze

- není jen prostou hemodynamickou odchylkou ale je až v 80% případů sdružena s řadou metabolických odchylek
- inzulinová rezistence / porušená glukózová tolerance / diabetes
- obezita
- dyslipidemie
- jejich společný výskyt je častější než by odpovídalo náhodnému souvýskytu = **METABOLICKÝ SYNDROM**

Genetický základ EH

- 20 – 40 % variability TK je určeno geneticky
- hypertenze je jednoznačným rizikovým faktorem kardiovaskulární a cerebrovaskulární mortality a rizikovým faktorem selhání ledvin
- vzestup o každých 20 mmHg SBP a 10 mmHg DBP zdvojnásobuje riziko (významně potencuje proces aterogeneze – mechanické poškození endotelu usnadňuje působení všech ostatních faktorů a při již rozvinuté ateroskleróze napomáhá její akutní manifestaci (ruptura plátu)

Esenciální hypertenze

Vnější faktory

1. příjem Na (soli)

- po snížení příjmu obvykle pokles TK (i když ne vždy)
- zvýšená citlivost k Na se uplatňuje zejm. v některých populacích (zejm. černoši), kde je příjem Na obecně nízký, a proto je zajištěna intenzivní reabsorpce Na (přetrvává i v jiných podmínkách - "gen otroků")
- na druhou stranu např. v Evropě je příjem soli obecně vysoký, a přesto ne všichni jsou hypertonici (evidentně různá citlivost)

2. chronický stres

- zpočátku reaktivní ↑ TK vede k remodelaci cévní stěny, a tím fixaci hypertenze (prokázáno např. studiemi srovnávající skupiny osob stejného věku a pohlaví ale různých profesí = úrovní stresu žijících ve stejném prostředí např. jeptišky, letečtí dispečeři)

3. nárůst tělesné váhy / nadváha / obezita

4. alkohol ?

Esenciální hypertenze

Patogeneze – heterogenní onemocnění

1. vše co ovlivňuje srdeční výdej

- zvýšená aktivita sympatického nervového systému
- snížená citlivost k inzulinu
- snížená senzitivita baroreflexu
- aktivace osy hypotalamus - hypofýza (ACTH) - nadledvina (glukokortikoidy a aldosteron)
- zvýš. velikost levé komory

2. vše co ovlivňuje cirkulující volum

- vyšší plazmatické hladiny jednotlivých součástí RAS (t.j. hladina reninu, ACE, AGT)
- variabilita enzymů syntetizujících steroidy, zejm. aldosteron-syntetázy
- zvýš. citlivost k Na (centrální osmorecepce a tubuluglomerulární zpětná vazba)
- snížená citlivost k inzulinu
- změny hladin nebo působení atriálního natriuretického peptidu (ANP)

Esenciální hypertenze

3. vše co ovlivňuje periferní rezistenci
- zvýšená aktivita sympatického nervového systému
- vyšší plazmatické hladiny jednotlivých součástí RAS (t.j. hladina reninu, ACE, AGT)
- zvýš. aktivace ATR1 jako důsledek genet. variability
- kalikrein-kininový systém
- poměr mezi hladinami para-/autokrinních vazopresorických (endotelin, TXA) a vazodilatačních mediátorů (NO, adenosin)

4. vše co ovlivňuje poddajnost, hypertrofii a remodelaci cév
- růstové faktory jejich receptory
- oxidační stres
- změněné transportní procesy na buněčné membráně (Na^+/H^+ transport)

5. ostatní
- snížený počet nefronů
- fetální programování

Esenciální hypertenze

1. inzulinová rezistence

inzulin:

- má anti-natriuretický efekt (stimuluje Na^+/K^+ ATP-ázu → zvýšená reabsorbce Na v prox. i dist. tubulu)
- zvyšuje aktivitu sympatiku (tedy ↑ *CO*, perif. rezistence a vazokonstrikce v ledvině, sekrece reninu)

2. sympatický nervový systém

- kontroluje Q = průtok (tedy *CO*) i R = rezistenci
- noradrenalin z adrenergních nerv. zakončení a cirkulující adrenalin z dřeně nadledvin:

- α1-receptory - konstrikce perif. arteriol (včetně afferentní a efferentní arterioly → pokles RBF (renal blood flow) a GFR → zvýšená resorbce Na)
- β1-receptory – v srdci ionotropní a chronotropní účinek
- β1-receptory - v ledvině stimulují uvolnění reninu z granulárních *JG* b., a tím aktivaci systémového RAS

Esenciální hypertenze

3. RAS – kaskáda enzymatických reakcí vedoucích k vytvoření ATII

systémový efekt

- vazopresorický efekt
- aktivace fosfolipázy C → PIP2 (fosfatidylinositol 4,5-bifosfát) štěpen na IP3 a DAG → mobilizace intracelulárního Ca

- stimulace uvolňování aldosteronu v kůře nadledvin (reabsorbce Na a vylučování K v distálním tubulu a sběrném kanálku)
- ve dřeni nadledvinek AGII facilituje uvolnění katecholaminů
- centrálně zvyšuje tonus sympatiku (stimuluje uvolňování katecholaminů z nervových zakončení)
- v neurohypofýze AGII stimuluje sekreci vasopresinu (ADH) s následnou retencí vody (vazba AGII na specifický AT1-receptor)
- při dlouhodobém vzestupu koncentrace AGII → silný proonkogenní vliv – je stimulován růst hladkých svalových buněk cév a příčně pruhované svaloviny srdce, zvyšuje se syntéza kolagenu a zvyšuje se tvorba superoxidových radikálů

Esenciální hypertenze

3. RAS – kaskáda enzymatických reakcí vedoucích k vytvoření ATII

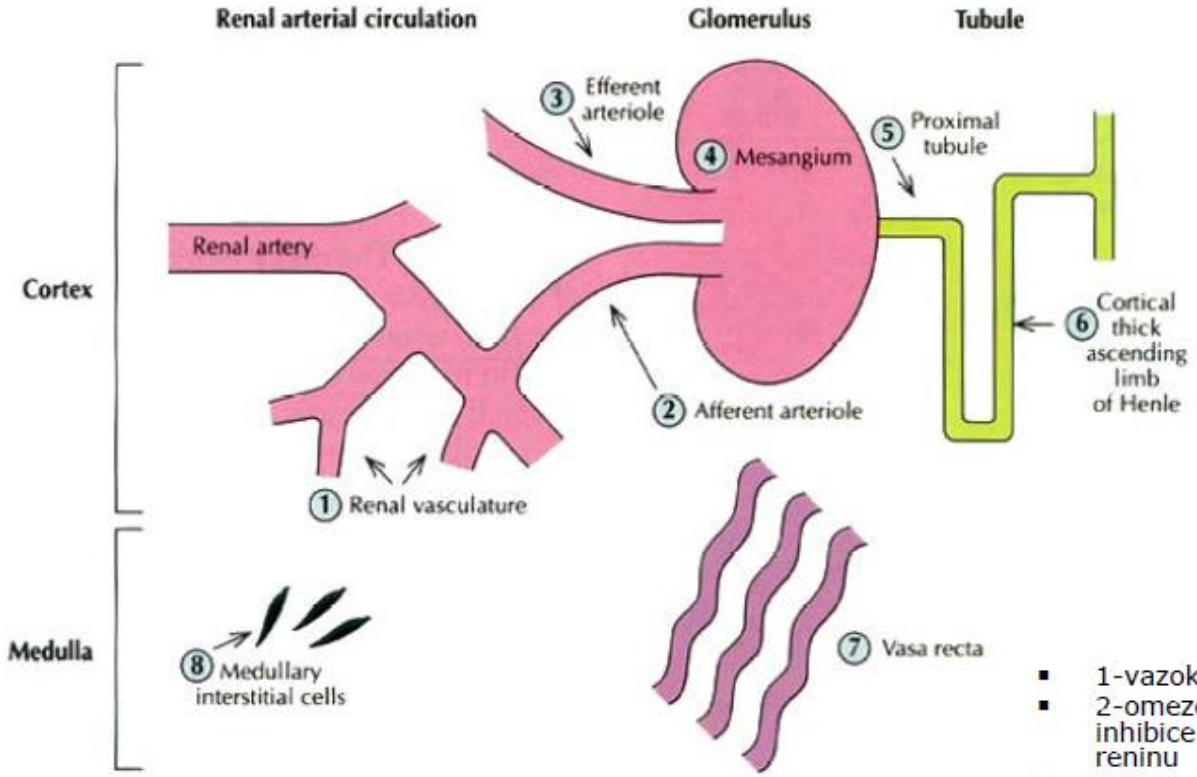
lokální účinek systémového ATII + zejm. lokálně tvořený AGT → ATII

- ATII – silný vazokonstriktor, způsobuje hypertenzi, přispívá k rozvoji aterogeneze stimulací proliferace buněk cévní hladké svaloviny

- dlouhodobější efekt zejm. v cévní stěně, myokardu a ledvině
- hypertrofie a remodelace cévní stěny a myokardu
- v ledvině hypertrofie glomerulů, proliferace mesangia a konstrikce vas efferens → zvyšuje reabsorbci Na v proximálním tubulu

Esenciální hypertenze

Lokální působení AT II v ledvině



- 1-vazokonstrikce
- 2-omezeně vazokonstrikce a inhibice tvorby a uvolňování reninu
- 3-preferenční vazokonstrikce
- 4-kontrakce
- 5 a 6-Na^+ reabsorpce
- 7-vazokonstrikce
- 8 –efekt neznámý

Esenciální hypertenze

4. vazokonstrikční a vazodilatační mediátory

oxid dusnatý (NO)

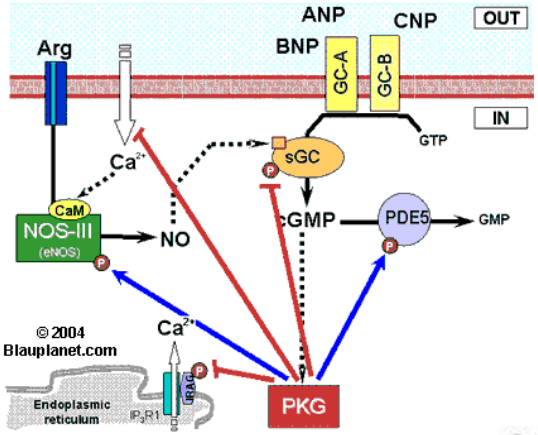
- tvořen NO syntetázou (NOS) - jednak konstitutivně exprimovanou (cNOS) a jednak inducibilní (iNOS)
- vede k relaxaci hl. svalstva cév
- inhibuje proliferaci bb.
- moduluje efekt jiných faktorů (ATII, endotelin, noradrenalin,…)

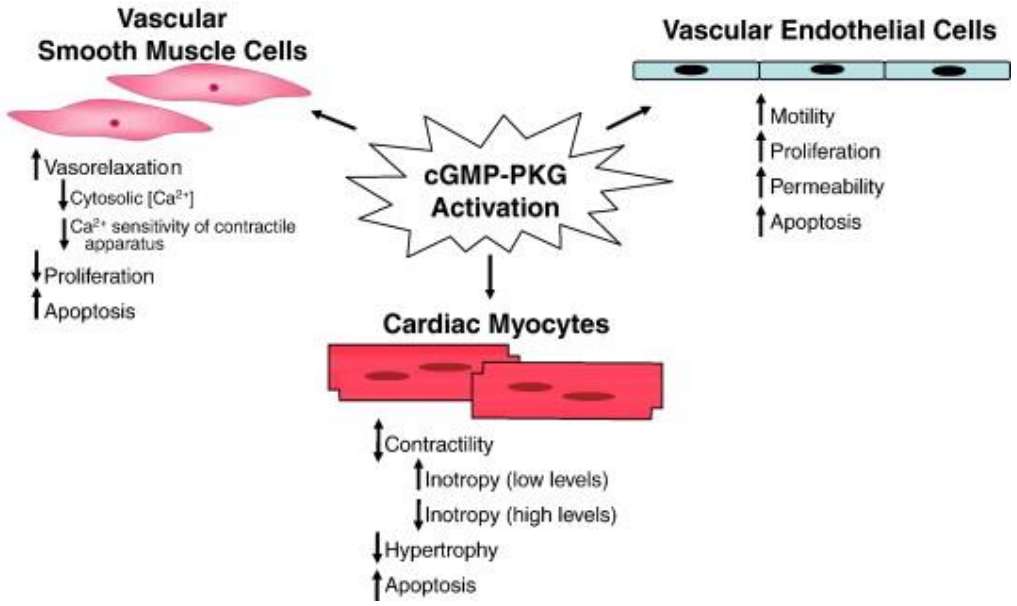
endotelin

- produkován endotelovými bb.
- velmi silný vazokonstriktor
- vazba na receptory

Esenciální hypertenze

NOS/NO/cGMP/PKG





PKG = protein kinase G enzyme

Nemoci periferních cév

- zahrnuje všechny choroby způsobené obstrukcí velkých arterií (tepen) rukou a nohou, kdy obtíže mohou vyplynout
- z aterosklerózy (kornatění tepen)
- ze zánětlivých procesů vedoucích ke stenóze (zúžení) tepen,
- z embolismu či z trombotických formací

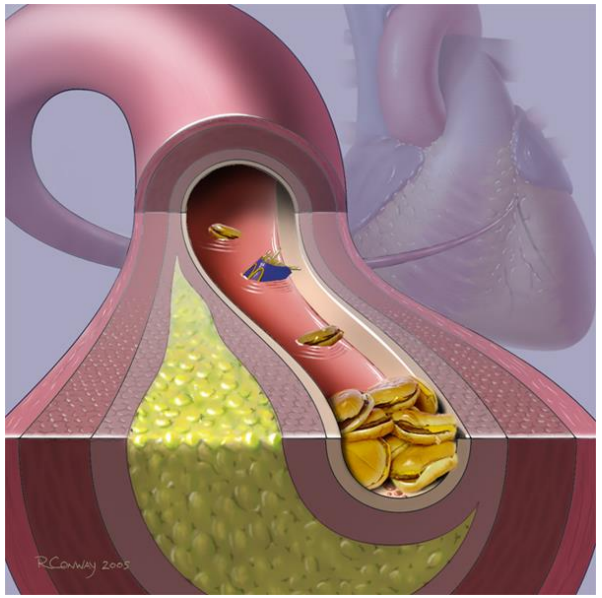
Ischemická choroba dolních končetin (ICHDK)

- je projevem systémové aterosklerózy v tepnách
- křečovité svalové bolestí vázané na námahu a rychle odeznívající při odpočinku
- později - noční bolesti, nehojící se vředy, změny barvy a teploty kůže na postižené končetině, kůže bývá suchá, promodralá, chladná, zpomalený růst ochlupení a nehtů
- až amputace

Ateroskleróza

- athera = kaše, atheroma = „kašovitý tumor“, sclerosis = ztluštění

- zánětlivé onemocnění cévní stěny („kornatění tepen“) charakterizované akumulací lipidů v přeměněných makrofázích – pěnových buňkách
- vzniká tak aterosklerotický plát, který v závislosti na své stabilitě může způsobit akutní či chronickou okluzi
- způsobuje poškození cévy – rozšíření cévy, její rupturu, nejč. částečná obturace jejího lumenu

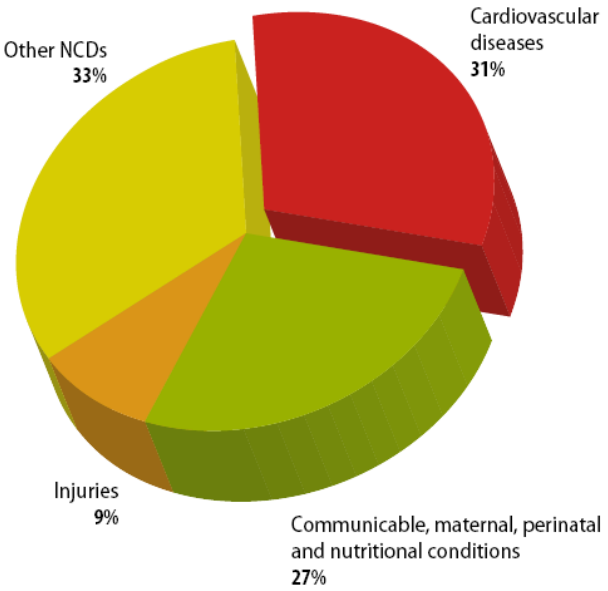


Ateroskleróza

Epidemiologie

- kardiovaskulární choroby tvoří celosvětově asi 1/3 všech úmrtí (nejčastější příčina)
- v ČR a Evropě je podíl cca $\frac{1}{2}$
- z toho asi 80 % připadá na nemoci spojené s aterosklerózou, zejména srdce a mozku
- jedná se také o nejrozšířenější příčinu morbidity a invalidity

Distribution of major causes of death including CVDs (*1*).



Ateroskleróza

Patogeneze aterosklerózy

- aktivované endotelové buňky přitahují do místa léze :
  - monocyty/makrofágy a T-lymfocyty z krevní cirkulace
  - buňky vaskulární hladké svaloviny z medie

- subendotelový prostor se postupně zvětšuje (zvýšená cytoadheze)

- současné zvýšení permeability endotelové výstelky umožňuje pronikání lipoproteinových částic do tohoto prostoru, dochází v nich k lipoperoxidaci působením reaktivních forem kyslíku a dusíku, které nebyly zneškodněny antioxidačním mechanismem

Ateroskleróza

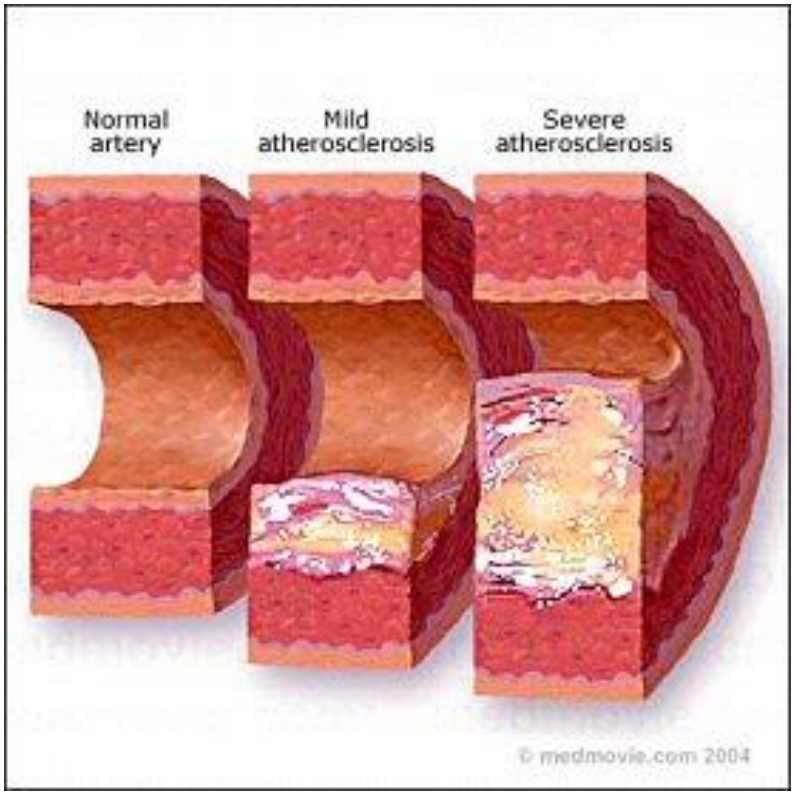
Průběh aterosklerózy

- vychytávání oxidovaných lipoproteinů (zejm. LDL) makrofágy pomocí svých „scavangerových" (čistících) receptorů a jejich přeměna v pěnové buňky
- stěna cévy se v místě poškození ztlušťuje (migrací a proliferací buněk hladké svaloviny, tvorbou extracelulární matrix, nekrotickými depozity z rozpadlých pěnových buněk)
- stěna cévy dostává prokoagulační vlastnosti
- tvorba aterómu (aterómového plátu)
- klinické příznaky se projeví, až když pokročilé léze stěny cévní se komplikují rupturou obalu ateromového plátu, krvácením do plátu, vznikem trombózy nebo embolu

Ateroskleróza

Stádia aterosklerózy

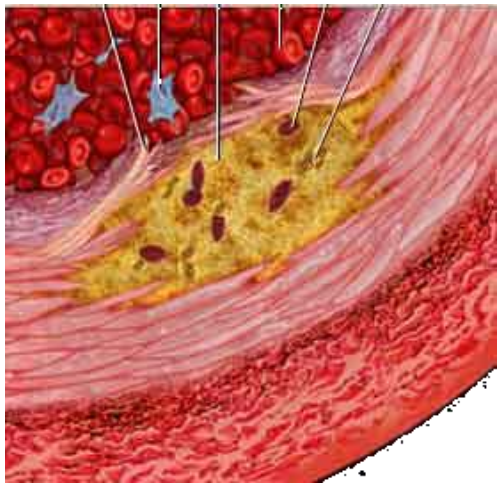
- iniciace
- zánět
- tvorba fibrózní čepičky
- ruptura plaku
- trombóza



Ateroskleróza

Patogeneze aterosklerózy - uplatňuje více mechanismů:

1. „endoteliální" – mechanické poškození endotelu a cévní stěny
2. „zánětlivý"
3. „lipidový" – metabolické poškození



Ateroskleróza

Fce endotelu

- antitrombotická – brání adhezi a aktivaci tro (kolagen a vWf), aktivuje fibrinolýzu, inaktivuje koagulační faktory (trombomodulin)
- ovlivňuje činnost hladkých cévních svalů, a tím cévní průsvit (NO a endotelin)
- bariéra pro přestup složek krevní plazmy do cévní stěny
- exprimuje spec. adhezivní molekuly pro leu
- vytváří některé cytokiny, kt. ovl. stabilitu cévní stěny nebo mitogenní úč. na cílové b.

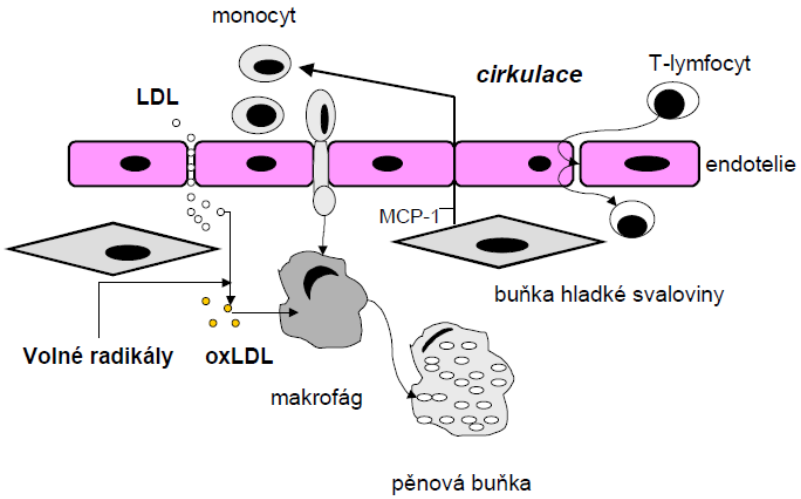
Ateroskleróza

Endoteliální dysfunkce

- zvýšená cytoadheze – protrombotické nastavení
- snížená schopnost vasodilatace
- zvýšená propustnost endotelu

- endoteliální dysfunkce časově předchází rozvoji aterosklerózy
- projevuje se zejména sníženou syntézou NO

Obr.: Schéma počáteční fáze dysfunkce endotelu



Ateroskleróza

Faktory atherogeneze

- HT – oxidační stres, mechanické poškození endotelu -„střižné napětí" (shear stress) cévní stěny při arteriální HT nebo u změny způsobu proudění z laminárního na turbulentní proudění

- diabetes (hyperglykemie, AGE) – oxidační stres, neenzymová glykace proteinů endotelu

- LDL – částice modifikovány oxidací, glykací (u diabetu), agregací s proteoglykany nebo inkorporací do imunitních komplexů = lipotoxicita

Ateroskleróza

Faktory atherogeneze

- HT
- ATII se váže na specifický receptor (AT-1) → uvolnění reaktivních forem kyslíku a dusíku v různých buňkách stěny arterií
- oxidační stres navozuje atrakci a aktivaci monocytů, což vede k produkci MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1)
- cestou superoxidového aniontu nabuzeného AT-1 receptorem je stimulována tvorba ICAM-1 a VCAM-1 v endotelových buňkách, aktivaci fosfolipasy C (PLC) , zvýšení koncentrace intracelulárního Ca^{2+} a kontrakci hladké svaloviny
- zvyšuje se dále proteosyntéza a hypertrofie hladké svaloviny stěny cévní
- AT-1 také zvyšuje aktivitu lipoxygenasy v buňkách hladké svaloviny, což podporuje zánětlivou reakci a lipoperoxidaci LDL (exprimuje se receptor pro oxLDL – LOX-receptor)
- ATII prostřednictvím aktivace receptoru AT-1 podporuje atherogenezi ve všech stádiích vývoje
- ACE2 (karboxypeptidasa) katalyzuje odštěpování C-terminálního konce ATI za vzniku nonapeptidu, který se po další peptidolýze mění na heptapeptid
- heptapeptid ATI nepůsobí vazokonstrikci, ale vazodilataci, a tedy nezvyšuje TK

Ateroskleróza

Faktory atherogeneze

- homocystein - zvýšená koncentrace v plasmě → zvýšená adhezivita molekul, syntéza kolagenu, oxidační stres (podávání folátu, vitaminu B_{12} a B_6 může hladiny normalizovat)

- infekce - přítomnost herpetických virů a *Chlamydia pneumoniae* v ateromových plátech a protilátky proti různým infekčním agens (*Helicobacter pylori, CMV, EB virus, Hemophilus influenzae…*), a také chronický zánět periodontia je rizikový faktor rozvoje aterosklerózy

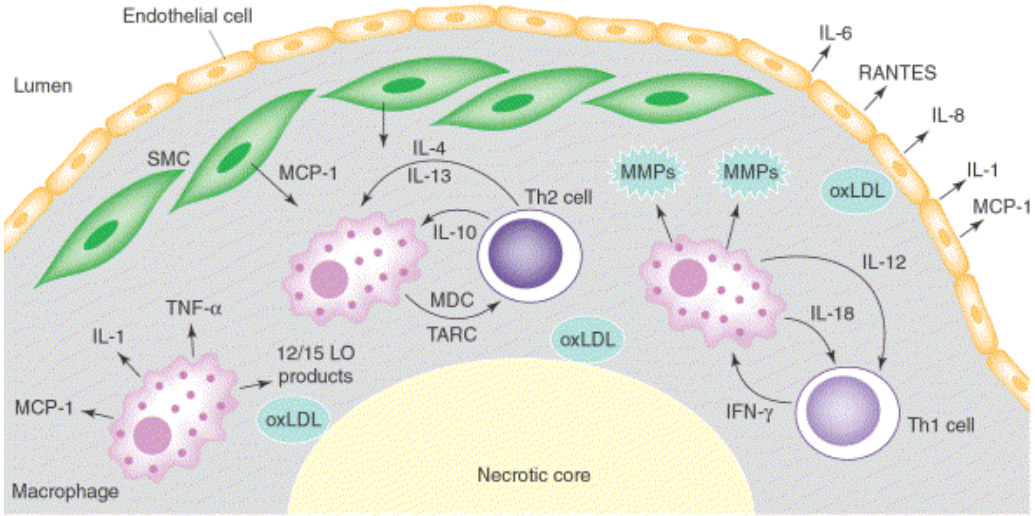
- kouření cigaret – dehet, akrolein působí na funkci leu → snižuje rezistenci vůči infekci, nikotin má imunosupresivní účinky atd.

- zánětlivá reakce

Ateroskleróza

Úloha zánětu v ateroskleróze

- infiltrace subendoteliálního prostoru leu
- vychytávání oxidovaných lipoproteinů makrofágy
- tvorba pěnových b., kt. produkují řadu zánětlivých mediátorů (např. cytokiny)
- zánět. mediátory podporují migraci buněk hladké svaloviny z medie do intimy a jejich proliferaci
- destabilizace a ruptura zaníceného aterosklerotického plátu



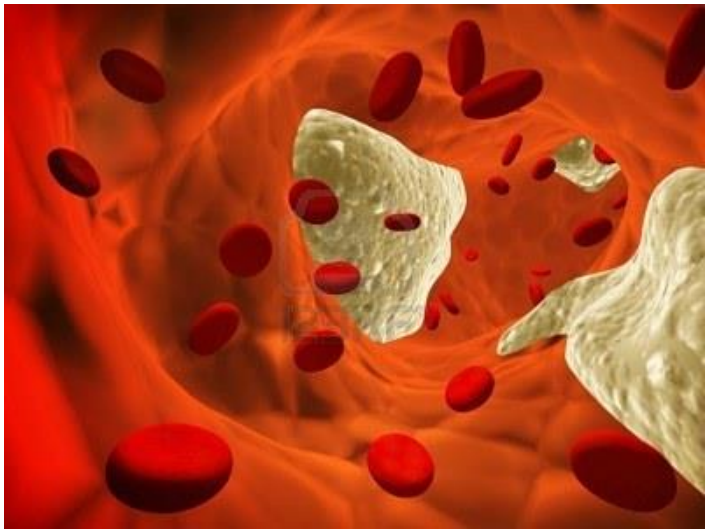
Ateroskleróza

Poruchy lipidového mechanismu

- poškození endotelu tepen oxidovanými lipoproteinovými částicemi (zejm. aterogenními)

Frakce lipoproteinů

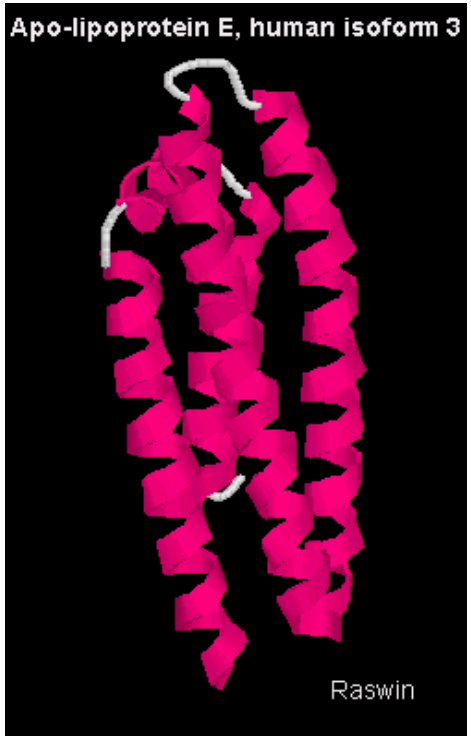
- aterogenní: LDL, remnanta chylomikronů a VLDL, ApoE
- antiaterogenní: HDL, ApoE



Ateroskleróza

Apolipoprotein E

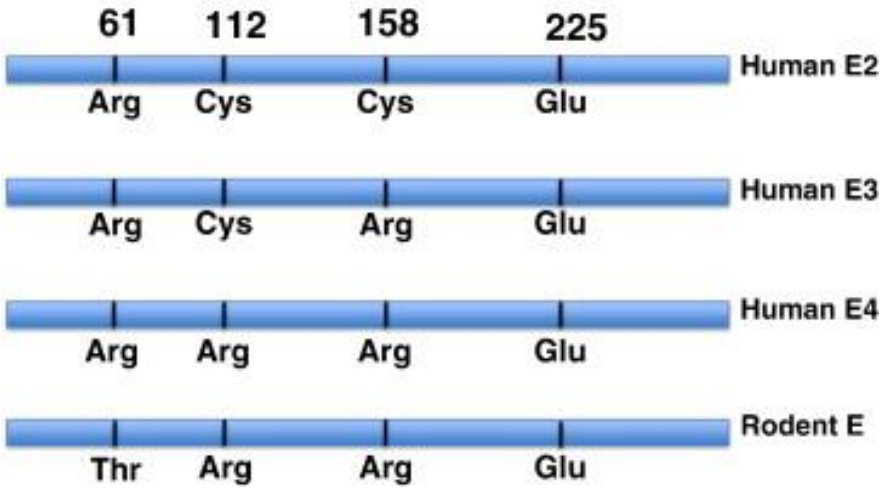
- tvořen v játrech, méně ve svalech a nadledvinách, lokálně je produkován v makrofázích a neuroglii
- transportuje lipoproteiny, vitamíny rozpustné v tucích CHL v lymfatickém systému a poté také v krvi
- na systémové úrovni je APOE součástí chylomikronů, VLDL, IDL a některých molekul HDL (HDL-APOE má antiagregační účinek)
- je ligandem LDL - receptoru a některých dalších receptorů v játrech, scavengerových receptorů makrofágů a neuronálních receptorů
- je-li přítomen na povrchu hepatocytu ve vazbě s proteoglykany, může vázat lipoproteiny neobsahující APOE
- je i součástí některých lokálně vytvářených lipoproteinových částic



Ateroskleróza

Isoformy ApoE

- celkem asi 30 isoforem apolipoproteinu E kódovaných různými alelami genu na chromosomu 19 (OMIM)
- v evropské populaci - isoformy E2, E3 a E4, lišící se aminokyselinami na 112. a 158. místě (kódovány alelami ε2, ε3 a ε4)
- alely jsou kodominantní, existuje tedy 6 různých fenotypů (E2/E2, E2/E3, E2/E4, E3/E3, E3/E4, E4/E4)



Ateroskleróza

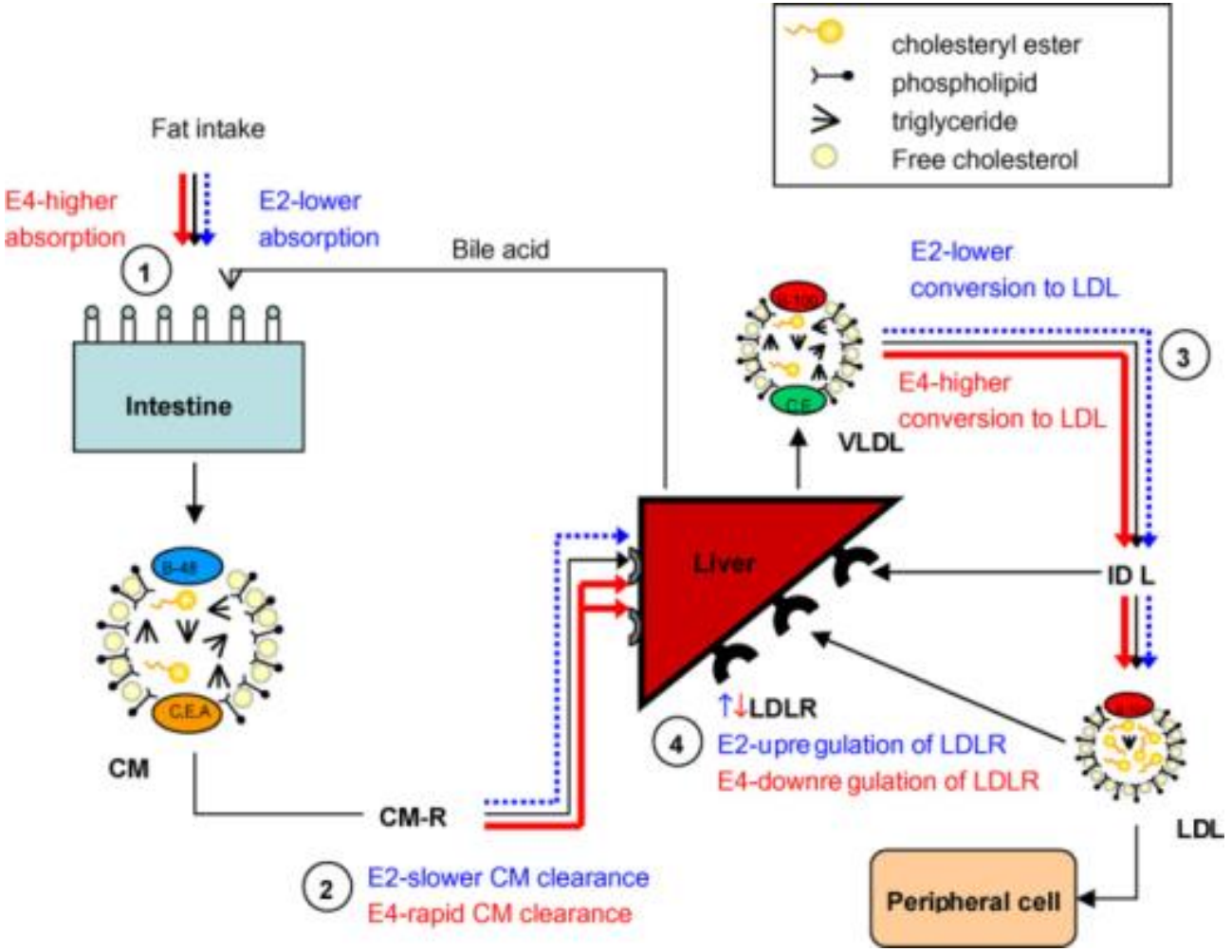
Isoformy ApoE

- isoforma APO E4 nevytváří heterodimery, je tak ve VLDL částici koncentrovanější → výraznější vazba na jaterní LDL - receptory a následně jejich down-regulace → výsledkem je zhoršené odbourávání CHL („šetřící varianta")

- isoforma E2 se na LDL- receptor váže s podstatně menší afinitou než E3 nebo E4 → up-regulace LDL-receptorů, zlepšení odbourávání LDL a nižší hladiny plazmatického CHL (homozygoti E2/E2 však hůře odbourávají chylomikrony a VLDL, důsledkem čehož je vyšší hladina triacylglycerolů)

Ateroskleróza

Isoformy ApoE



Ateroskleróza

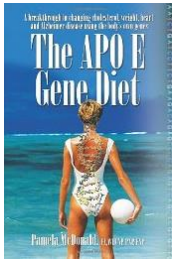
Isoformy ApoE

- isoforma E3, v populaci nejvíce rozšířená, leží obecně svými biochemickými a funkčními vlastnostmi mezi E2 a E4

- nositelé alely ε2 se vzhledem k nejčastějšímu genotypu ε3/ε3 chovají obvykle opačně, než nositelé alely ε4 (tj. u chorob, kde alela ε4 vystupuje jako riziková, ε2 má obvykle funkci protektivní a naopak)

- genotyp ε2/ε2 je podmínkou nutnou, ne však postačující k rozvoji familiární hyperlipidémie III. typu (FHLP III se vyskytuje u <10% nositelů ε2/ε2, ostatní jsou spíše normo- až hypolipidemičtí)

- nosičství alely ε4 je vůbec nejvýznamnější genetickou determinantou pro vznik late-onset Alzheimerovy demence



Ateroskleróza

Apolipoprotein E

ApoE deficientní myš

- u pokusných zvířat, zejména hlodavců, je obecně problematické modelovat aterosklerózu
- knock-out genu pro APOE (alternativou je knock-outovaný LDL-receptor nebo kombinace obojího)
- APOE deficientní myš má i zhoršenou reparaci nervové tkáně a kognitivní funkce

Ateroskleróza

Onemocnění spojená s aterosklerózou

- infarkt myokardu
- ICHS (s AP)
- srdeční selhání

- cévní mozková příhoda
- vaskulární demence

- renovaskulární HT
- ISCHD
- infarkt střeva, ledviny…

Ateroskleróza

Vyšetřovací metody

- většina metod slouží k detekci stenózy vyvolané aterosklerotickou lézí
- invazivní (sonografie cév, koronarografie…) i neinvazivní (zátěžový test…)

Krevní testy

- zaměřené na rizikové faktory
- rozhodující je lipidové spektrum, hyperglykémie (s HT tvoří „metabolický syndrom")
- při familiárním výskytu v mladším věku je vhodné provést i genetické testy na známé rizikové alely

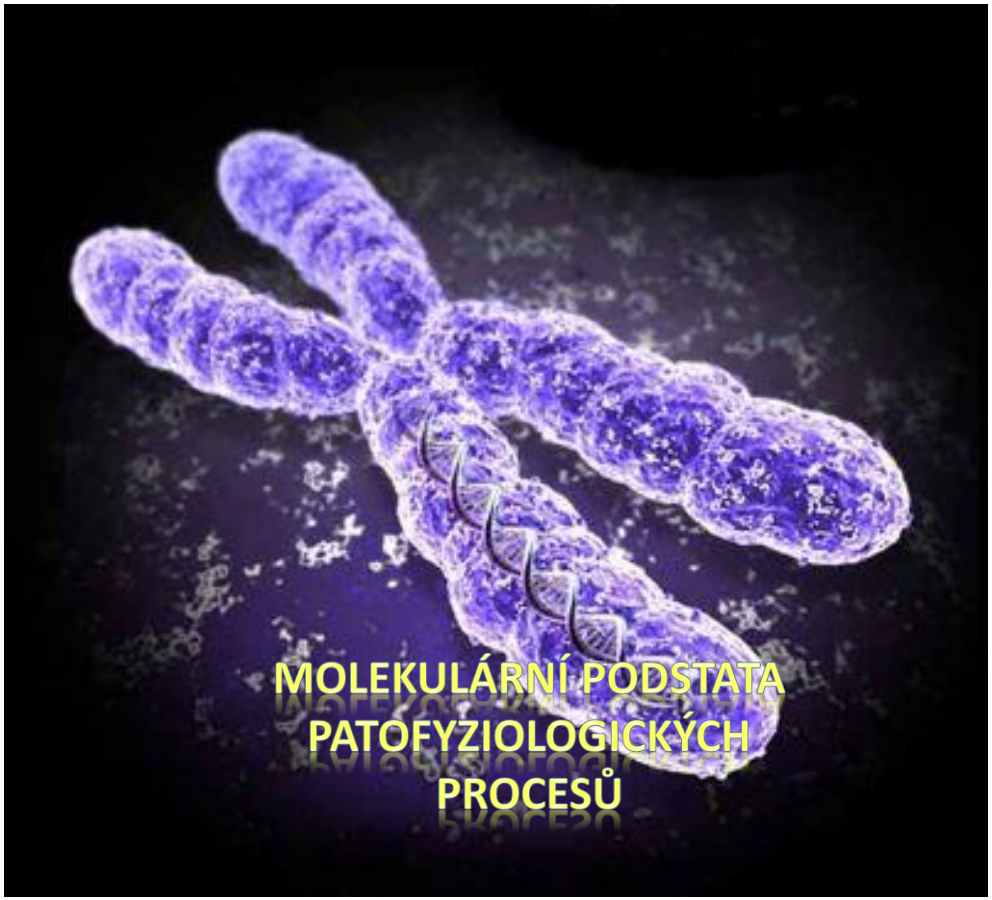
Ateroskleróza

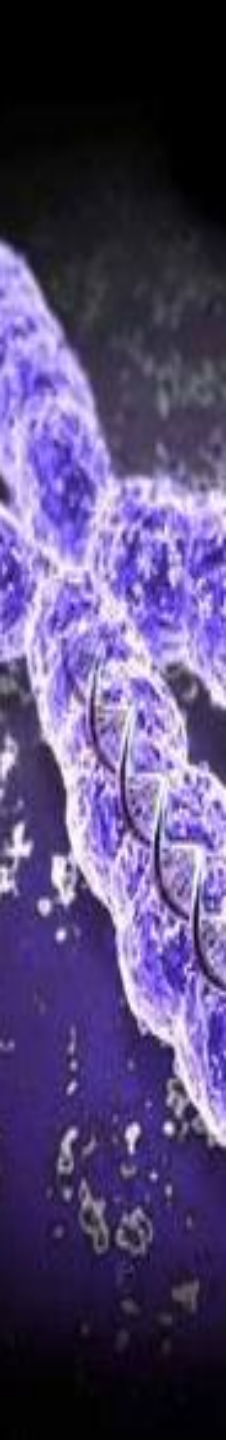
Evoluční hypotéza o společném základu příčin aterosklerózy a insulinové rezistence (diabetu)

- prehistorii člověka - hlavní příčinou smrti: infekce a dlouhodobý nedostatek potravy → lidský genom zaměřen na podporu imunity a odpovědi na zánět a na zvládnutí metabolické situace v době krize (udržení glukoneogeneze po dlouhou dobu za stavu malnutrice)
- nejlepší adaptace = podpora zánětlivé a imunitní odpovědi a mírná insulinová rezistence
- jiný životní styl = fyzická aktivita, proteinová výživa bez čistých cukrů = neměli aterosklerózu ani diabetes
- insulinová rezistence a diabetes mají úzký vztah k mírnému zánětu a k alteraci v imunitním systému
- bylo prokázáno, že adipocyty produkují prozánětlivé cytokiny, tedy že centrální obezita je svázána s aterogenezí a diabetem
- zvýšení CRP a IL-6 predikuje aterotrombózu

MONOGENNÍ VS. KOMPLEXNÍ NEMOCI

MGR. PETRA BOŘILOVÁ LINHARTOVÁ



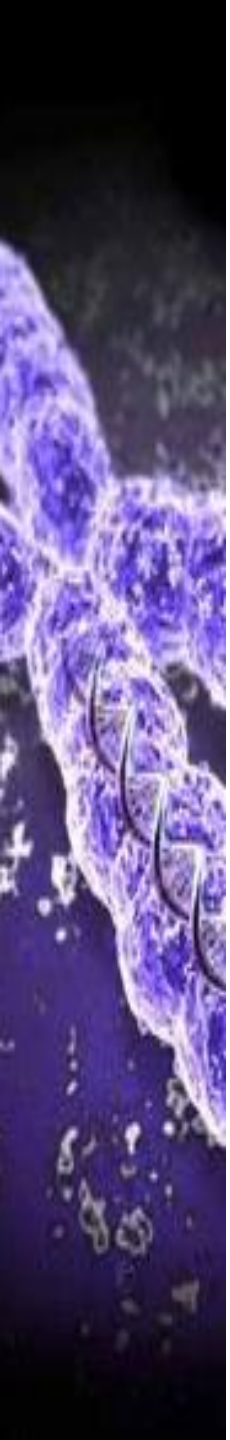


Monogenní nemoci

- **mendelistická dědičnost**

- dědičný podklad - velký faktor, tj. je přítomen prakticky u všech nemocných a jedná se prokazatelně o faktor příčinný (např. defekty v dystrofinovém genu u muskulárních dystrofií), k němuž se přidávají jen jako přídatné další faktory genetické i faktory zevního prostředí.
- příčinou těchto nemocí bývají především tzv. **vzácné alely**

  - je determinována alelami v jednom lokusu
  - variantní alela, která vznikla mutací někdy v nedávné nebo vzdálené minulosti a je většinou relativně málo častá, nahrazuje původní „divokou" alelu na jednom nebo obou chromozomech
  - mají charakteristický způsob přenosu v rodinách

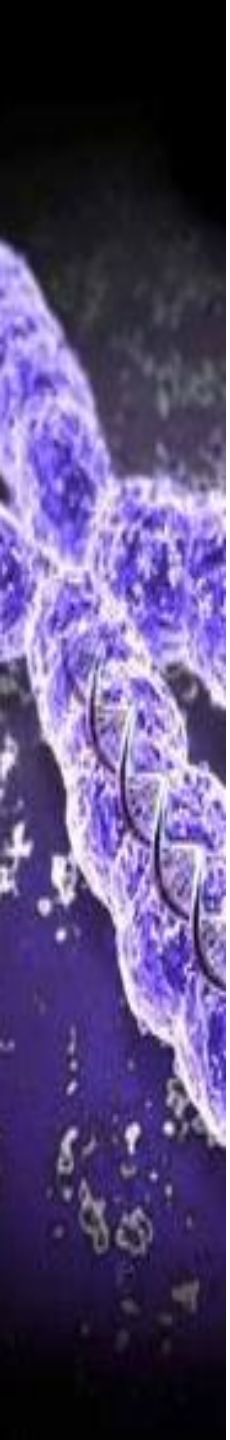


Monogenní nemoci

- choroby dětského věku
- méně než 10 % z nich se manifestuje po pubertě a pouhé 1 % se objeví po skončení reprodukčního věku
- často výrazně patologické

- v populační studii na 1 milionu živě narozených dětí byla incidence vážných monogenních chorob odhadnuta na 0,36 %, u 6-8% hospitalizovaných dětí se uvažuje o monogenních chorobách
- doposud známé shrnuje OMIM (On-line Mendelian Inheritance in Man)

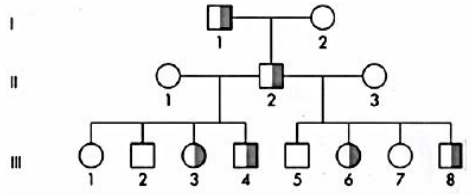
  ~ 6000 klinicky významných fenotypů

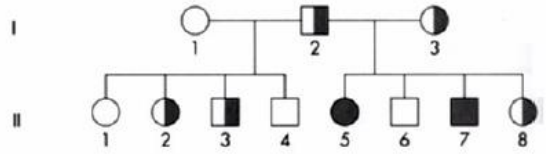


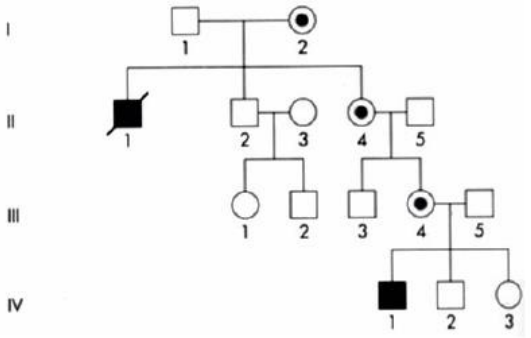
Monogenní nemoci

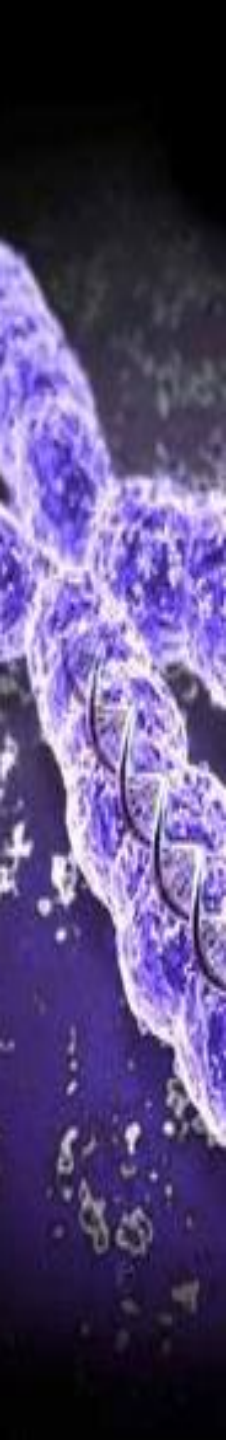
Základní typy dědičnosti:

	dominantní	recesivní
autozomální	autozomálně dominantní (AD)	autozomálně recesivní (AR)
X-vázaný	X-dominantní (XD)	X-recesivní (XR)









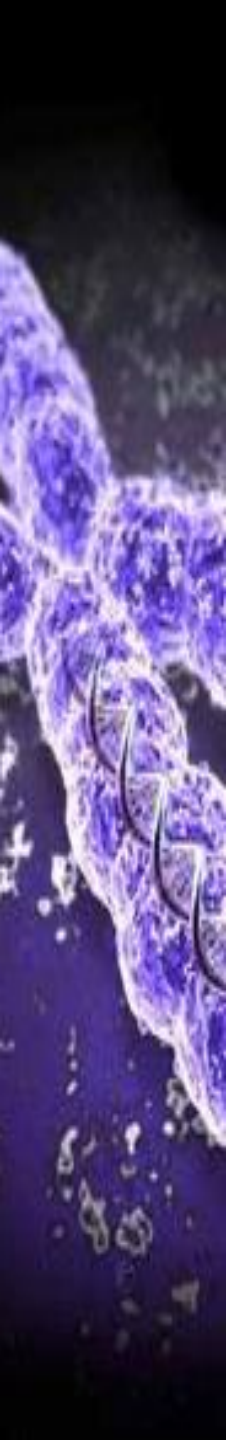
Monogenní nemoci

Typy přenosu

- autozomální - geny na obou autozomech aktivní

- gonozomální (X-chromozom vázané)
  - muži hemizygotní
  - u žen 1 X-chromozom inaktivován!!

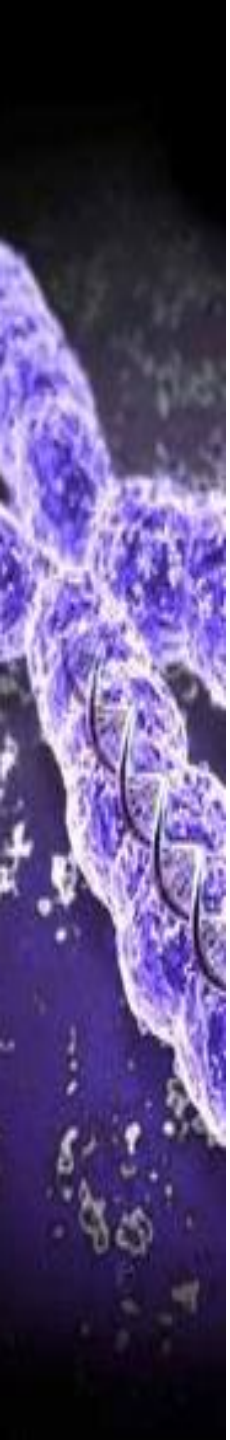
- jiné
  - imprinting = aktivita určitého genu regulována v závislosti na tom, od kt. rodiče byl gen zděděn
  - mozaicizmus = přítomnost dvou (nebo více) buněčných linií s různým karyotypem, pocházejících z jedné zygoty



Monogenní nemoci

Podle projevu genotypu ve fenotypu

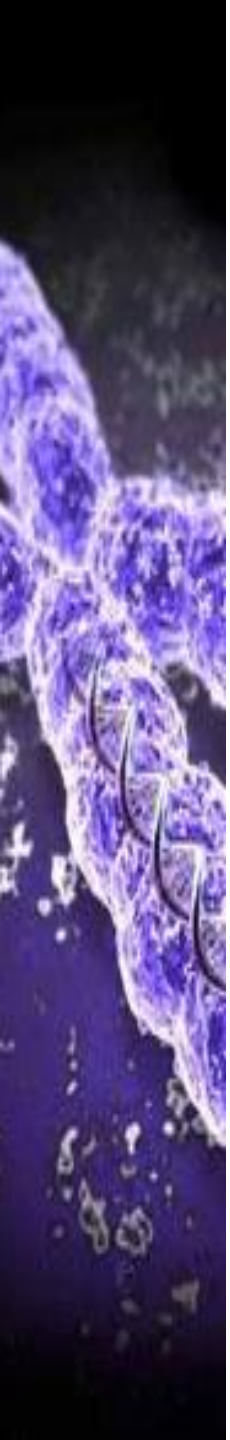
- recesivní - nemoc jen u mutovaného homozygota
- dominantní - nemoc stejná u heterozygota a mutovaného homozygota
- neúplně dominantní - odstupňovaná tíže nemoci u heterozygota a mutovaného homozygota
- kodominantní - jak normální tak patologická alela jsou vyjádřeny ve fenotypu



Monogenní nemoci - AD

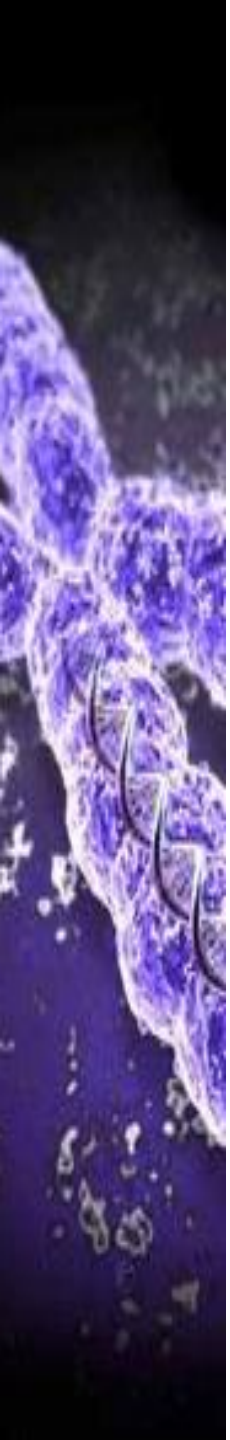
- nemoci jsou důsledkem jak mutací přenášených mezi generacemi tak vzniklých nově
- nemoc se projevuje v každé generaci - postižený jedinec má postiženého rodiče (a prarodiče), a to matku nebo otce
- riziko pro potomka 0,50 (pokud by byli oba rodiče postižení pak 0,75, ale to je vzácné)

- familiární hypercholesterolemie (1/500),
- myotonická svalová dystrofie (1/1000)
- Huntingtonova chorea (1/3000)



Huntingtonova chorea

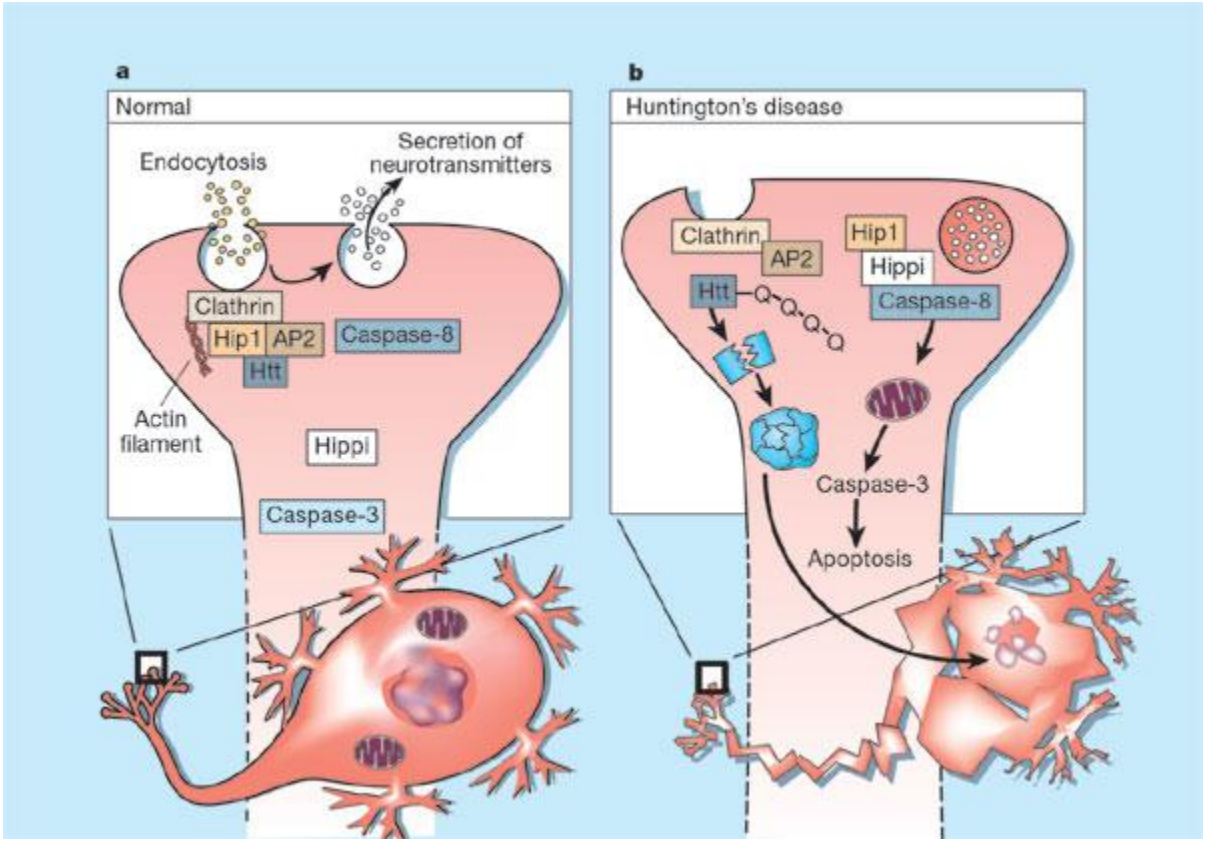
- fatální neurologické onemocnění s nástupem v dospělosti, projevující se jako demence s extrapyramidovou poruchou motoriky
- v genu pro huntingtin je repetitivní sekvence $(CAG)_n$, která kóduje úsek bílkoviny tvořený zbytky glutaminu (polyglutaminový úsek, polyglutamine tract)
- za normálních okolností mají lidé méně než 20 trinukleotidů CAG a tedy i glutaminů v huntingtinu, kde tyto tvoří důležitou doménu pro interakce s jinými proteiny
- pokud se však mutací toto množství zvětší nad 30 glutaminů, protein nepracuje správně s výsledným progresivním odumíráním neuronů v nucleus caudatus



Huntingtonova chorea

Klathrin

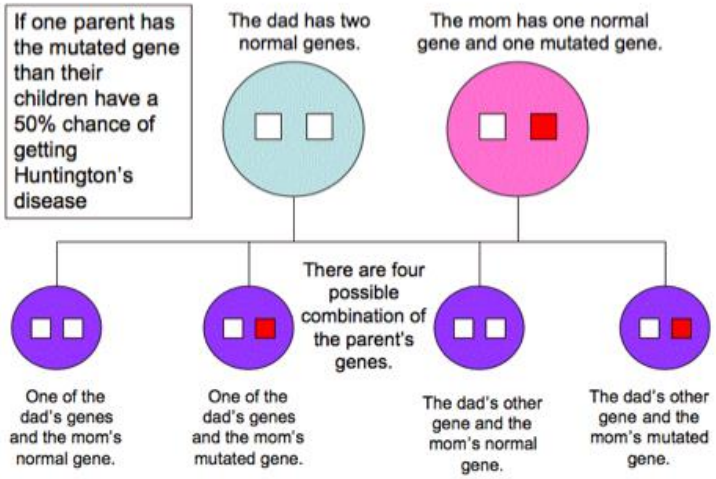
- je protein, který je schopen vytvořit plášť na povrchu v okrscích některých buněčných membrán, což usnadňuje vznik váčků během receptorem zprostředkované endocytózy

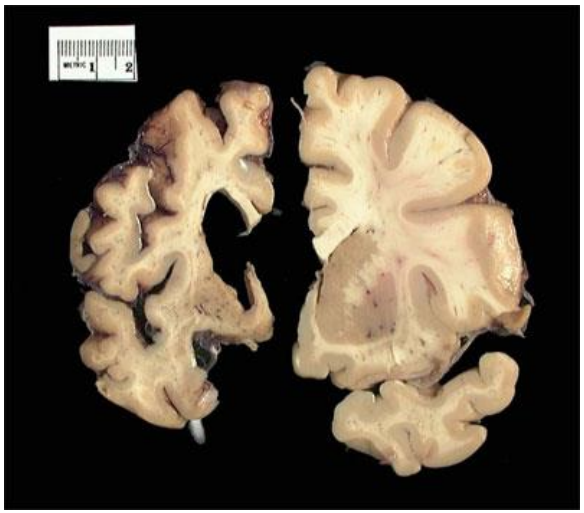


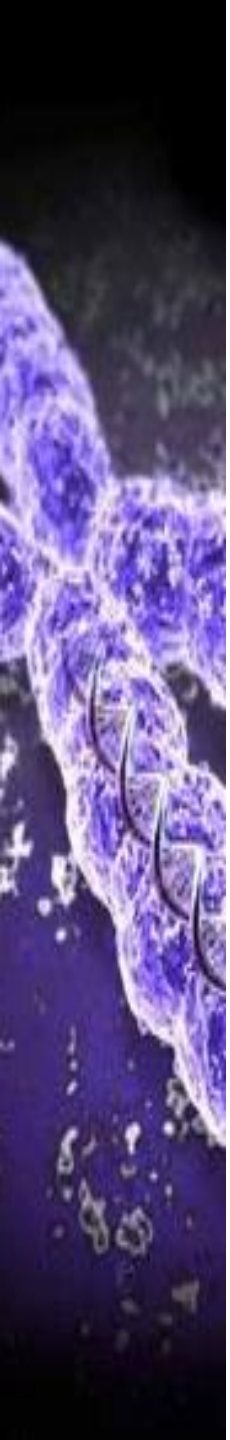
Huntingtonova choroba

- trinukleotidová expanze

	ancestral	mutant
DNA	…TAC-GTC-…	…TAC-$(GTC\text{-}GTC\text{-}GTC)_{20}$-GTC-…
mRNA	…-AUG-CAG-…	…-AUG-$(CAG\text{-}CAG\text{-}CAG)_{20}$-CAG-…
AA	…-met-gln-…	…-met-$(gln\text{-}gln\text{-}gln)_{20}$-gln-…

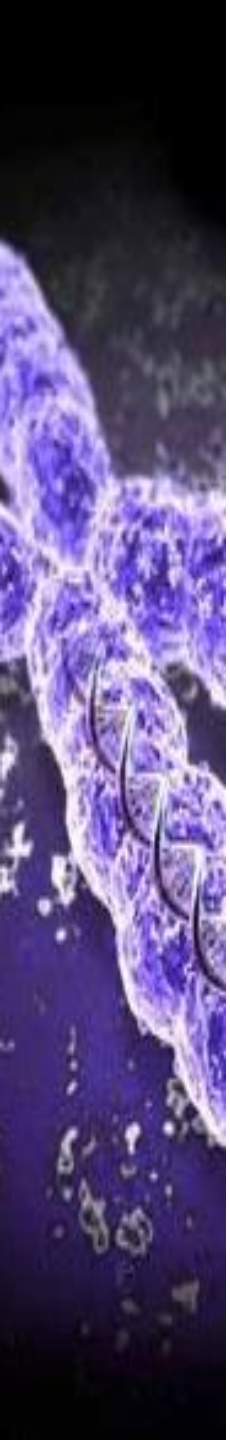






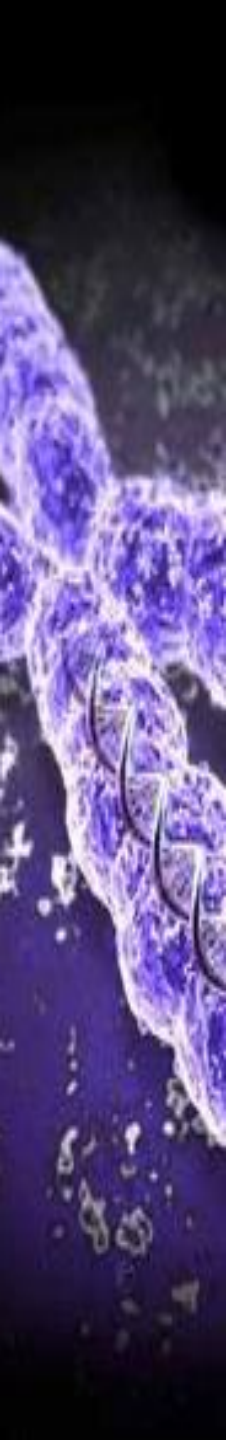
Monogenní nemoci - AR

- u heterozygotů s 1 mutovanou alelou stačí produkt k udržení normální funkce
- velmi často enzymové defekty
- postižen je mutovaný homozygot (popř. sourozenci), heterozygotní rodiče jsou přenašeči (asymptomatičtí) - riziko 0,50 × 0,50 = 0,25
- frekvence přenašečů nemoci v populaci >>> frekvence nemocných
- nejčastější AR nemocí u bělochů je cystická fibróza (f nemocných 1/2000, f přenašečů 1/22)
- konsanguinita (příbuzní rodiče) a geneticky izolované populace (např. Aškenazi židé – Tay-Sachsova choroba)



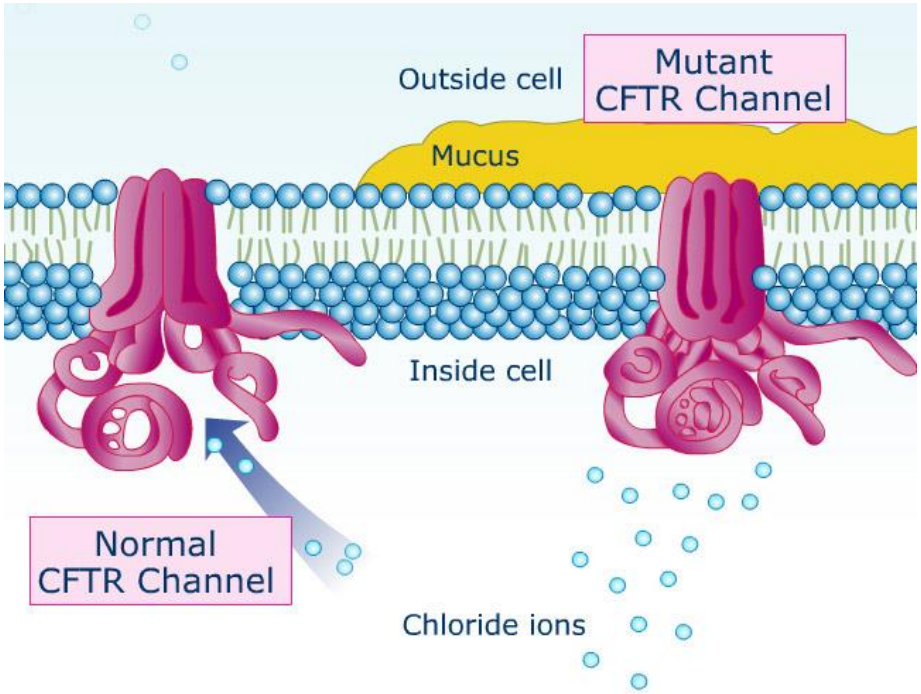
Monogenní nemoci - AR

- manifestní onemocnění u heterozygota je důsledkem:
  - haploinsuficience - pro normální funkci je potřeba >50% aktivního genového produktu
  - dominantě negativního efektu - syntéza abnormálního proteinu, který "soutěží" s normálním a ovlivňuje fenotyp
  - zesílení funkce ("gain-of-function") - mutací je posílena přirozená vlastnost proteinu
  - ztráty heterozygotnosti (loss-of-heterozigosity, LOH) v somatické buňce - např. familiární predispozice k nádorům v důsledku mutací v supresorových genech (např. retinoblastom)

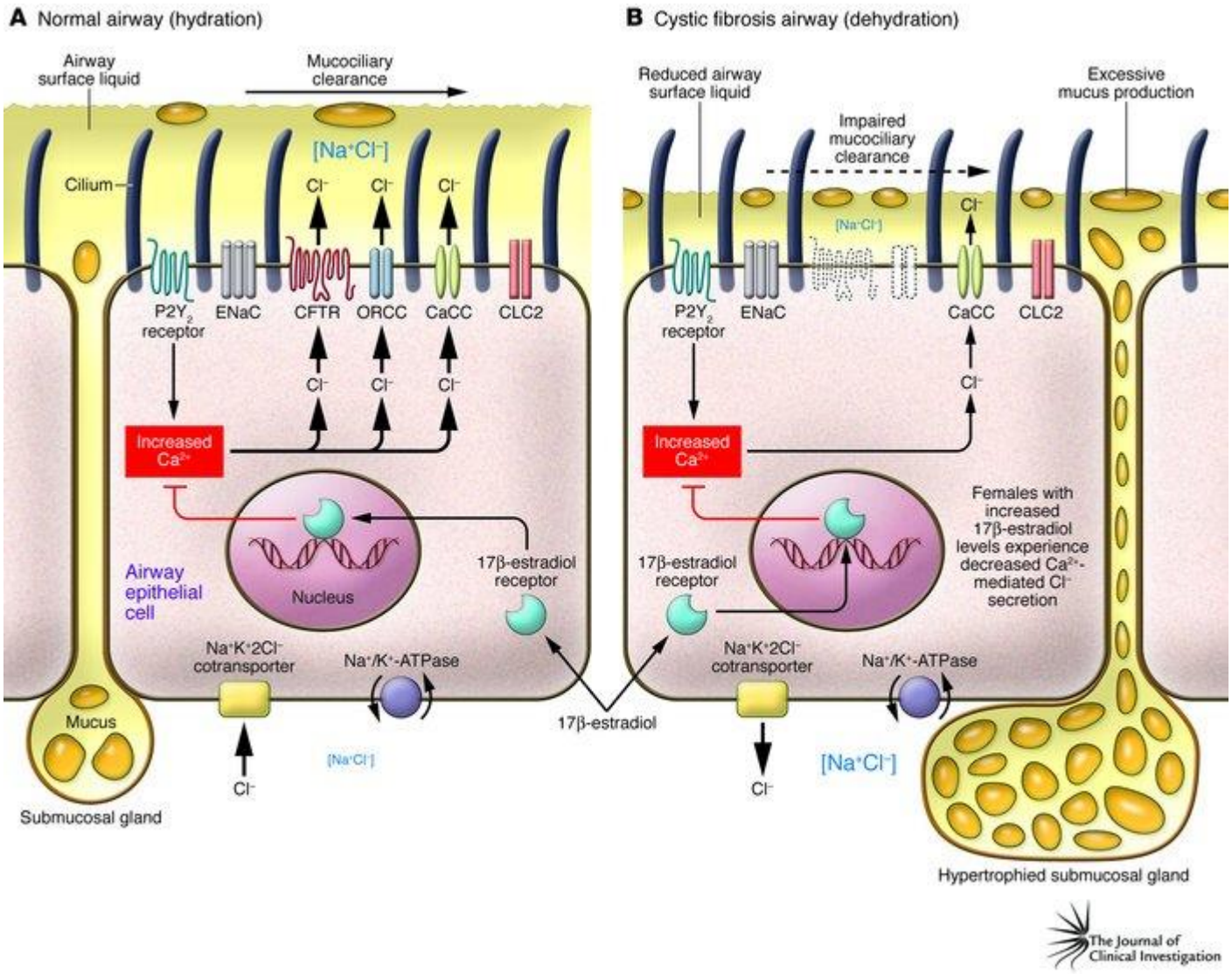


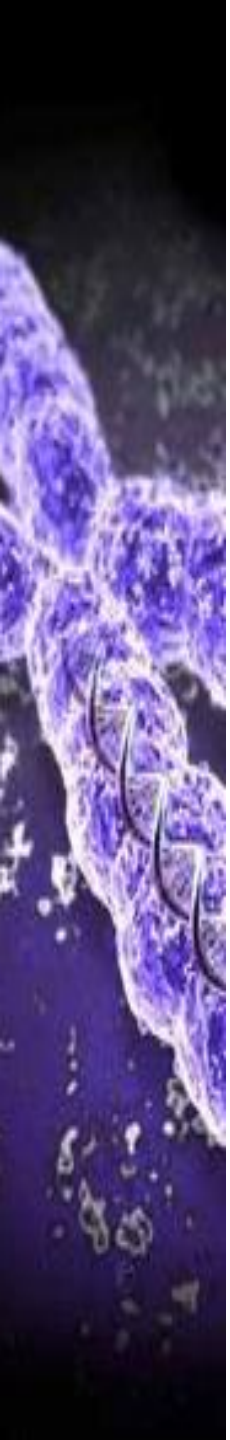
Cystická fibróza

- v zakavkazské populaci s incidencí 1: 3000 živě narozených dětí a frekvencí přenašečů 1:25. Je to onemocnění multiorgánové, zasahuje různé orgány, plíce, pankreas, trávící trakt, reprodukční orgány.
- základní fyziologický defekt při tomto onemocnění je porucha v transportu iontů chlóru, sodíku a vody přes apikální membránu specializovaných epiteliálních buněk, který je regulován chloridovým kanálem (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Protein = CFTR)



Cystická fibróza





Cystická fibróza

- deleční mutací genu produkujícího protein CFTR (chloridový ABC transportér na buň. membráně) → nefunkční protein
- delece 3 bp v pozici 1652 až 1655 v exonu 10 (delece phe v kodonu 508)

	ancestral	mutant
DNA	-TAG-AAA-CCA-	-TA A-CCA-
mRNA	-AUC-UUU-GGU-	-AUU-GGU-
AA	-ile-phe-gly-	-ile-gly-

Metody léčby

Symptomatická

- substituční terapie - dodání proteinu, který je v daném organismu defektní nebo zcela chybí (př. enzymopatie hemofilie - dodání faktoru VIII)

- karenční terapie - vyloučení nebo omezení složky potravy, která v důsledku defektu enzymu není odbourávaná (př. fenylketonurie - potrava bez phe)

Kauzální

- genová terapie - náhrada mutovaného, nefunkčního genu standardními, funkčními geny

Genová terapie

- zahrnuje všechny postupy, které využívají přenosu genetického materiálu do buněk pacienta k léčebným účelům
- metodologie GT je uplatnitelná tam, kde je známa molekulární podstata nemoci
- vzhledem k tomu, že poznatků o patogenezi chorobných stavů na molekulární úrovni přibývá, rozšiřuje se i okruh indikací pro GT
- v nejbližších letech změní zásadním způsobem léčbu mnoha lidských nemocí

Genová terapie

Využití při léčbě

- vrozených chorob – korekce abnormality (nemoci monogenní i polygenní)
- i získaných chorob - jakákoliv manipulace s DNA, která příznivě ovlivní průběh nemoci (zhoubné nádory, léčba kardiovaskulárních a metabolických chorob, degenerativních nervových onemocnění, AIDS, v transplantační medicína

Principy

- nahrazení nefčního genu fčním (homologní rekombinace)
- oprava nefčního genu (cílené mutace)
- přenesení nového genu (terapeutický gen)

Genová terapie

Co je třeba znát před začátkem genové terapie?

- kompletní informace o defektním genu - umístění, mechanizmus patologického účinku
- znalost přesné sekvence zdravého genu
- volba vhodného vektoru, vytipování cílových buněk
- souhlas pacienta

Genová terapie

- opravu, vložení, vyřazení genu lze provádět *in vivo*, *in vitro* a nejč. *ex vivo*
- odběr bb. z pacienta -> kultivace in vitro -> modifikace DNA -> selekce -> proliferace selektovaných bb. -> přenos zpět do pacienta)
- geny lze do genomu začlenit v časné embryogenezi (léčba v zárodečné linii)
- gen může být začleněn pouze do somatických bb., které jsou nejvíce poškozené (v tomto případě se geneticky opravená DNA nepředává následujícím generacím potomků)

Genová terapie

Postup při genové terapii

- vytvoření genetické informace určené pro transport do buněk
- vytipování cílových buněk (provedení *in vivo* x *in vitro* /*ex vivo*)
- vpravení vektoru (vektory = nosiče pro vpravení genetické informace do cílových buněk)

Vlastnosti ideálního **vektoru**

- průnik do velkého počtu cílových buněk
- přenos genu v transkripčně aktivním stavu
- netoxický pro cílové buňky

- plazmidy, virové částice

Genová terapie

Virové vektory

- interakce s receptory na povrchu cílových buněk
- vybavení regulačními elementy zajišťujícími účinnou expresi transgenů
- integrace transgenu do buněčného genomu

- náročnější příprava (mimo jiné se musí se zbavit všech virových genů, aby nebyly infekční)
- malý rozměr částic
- vyšší biologická rizika (hrozí nebezpečí rekombinace a vzniku viru schopných replikace)
- nejčastěji používané virové vektory – retroviry (dělící se bb.), adenoviry (začlení se i do nedělících se bb.), poxviry, adeno-asociované viry (AAV) a herpetické viry

Genová terapie

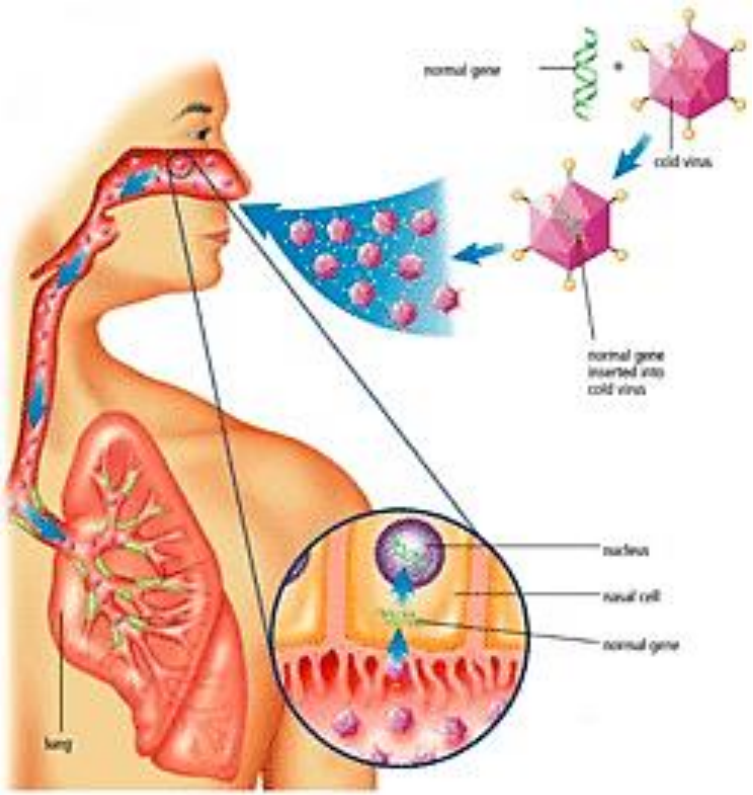
Monogenně podmíněná onemocnění teoreticky vhodná pro genovou terapii

- Parkinsonova choroba (gen pro dopamin -> do bb. subst. nigra)
- cystická fibróza (gen CFTR -> epitel v plicích, pankreatu aj.)
- fenylketonurie (gen pro phenylalanin hydroxylázu - > hepatocyty)
- hemofilie A, B (gen pro faktor VIII a IX -> hepatocyty)
- Duchennova svalová dystrofie (gen pro dystrophin -> svaly)
- α-,β-talasemie (gen pro α-,β-globin -> ery)
- srpkovitá anémie (gen pro β-globin -> ery)

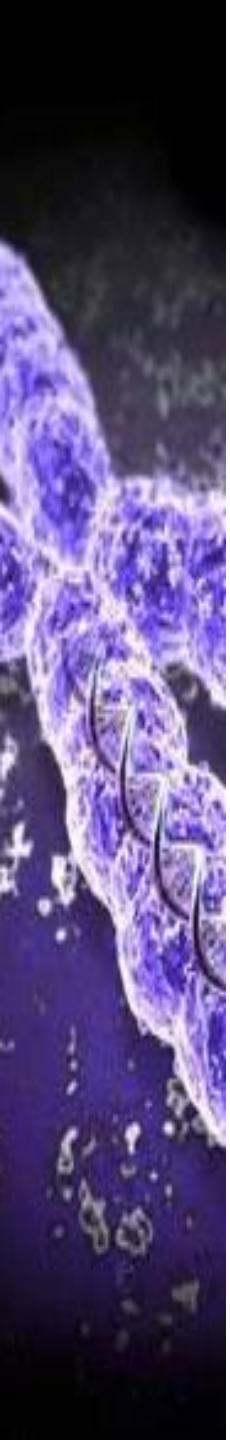
Genová terapie

Cystická fibróza

- genová terapie v prenatálním období



Gene therapy could deliver a working gene into a CF patient's cells.
(courtesy of BC Science 9, © McGraw-Hill Ryerson Limited, 2008.)

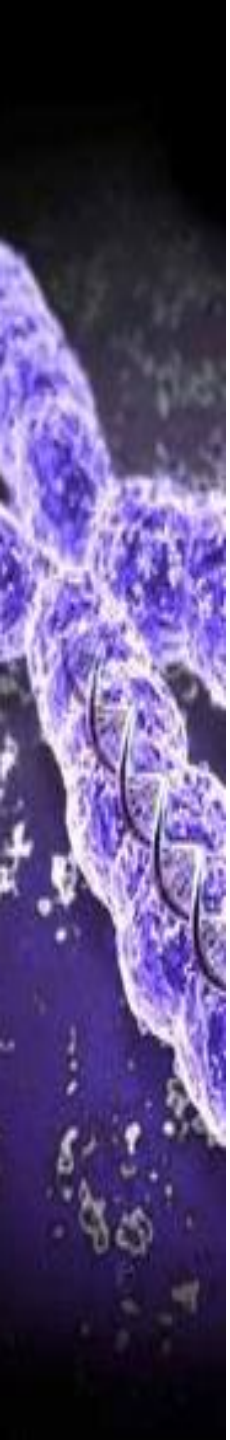


Monogenní nemoci - X-vázané

- ženy 3 genotypy, muži pouze 2

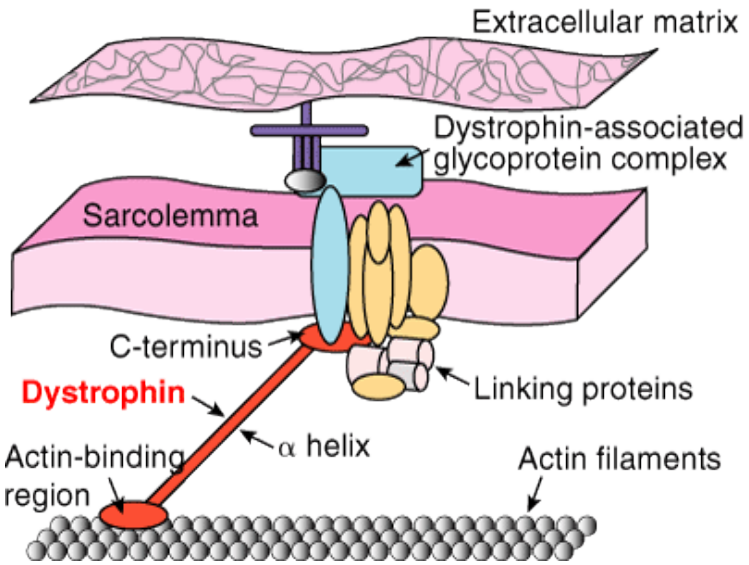
- X-vázané nemoci se manifestují u všech mužů, kteří zdědili mutaci, a pouze u homozygotních žen

- hemofilie A
- Duchenneova muskulární dystrofie
- Wiskott-Aldrichův syndrom (imunodeficience)

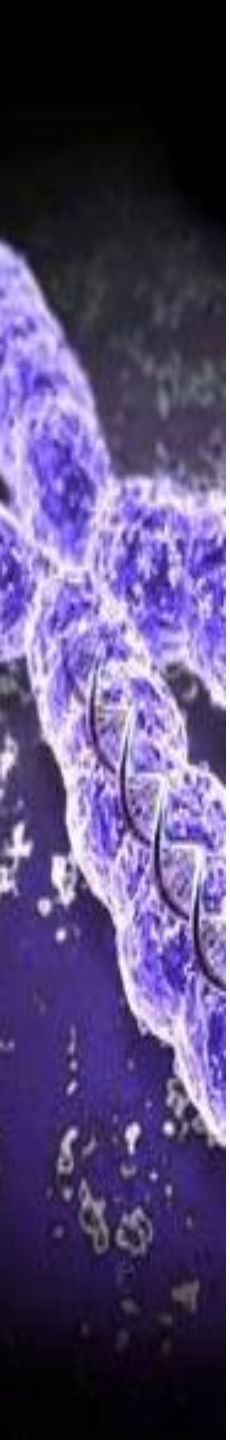


Duchennova svalová dystrofie

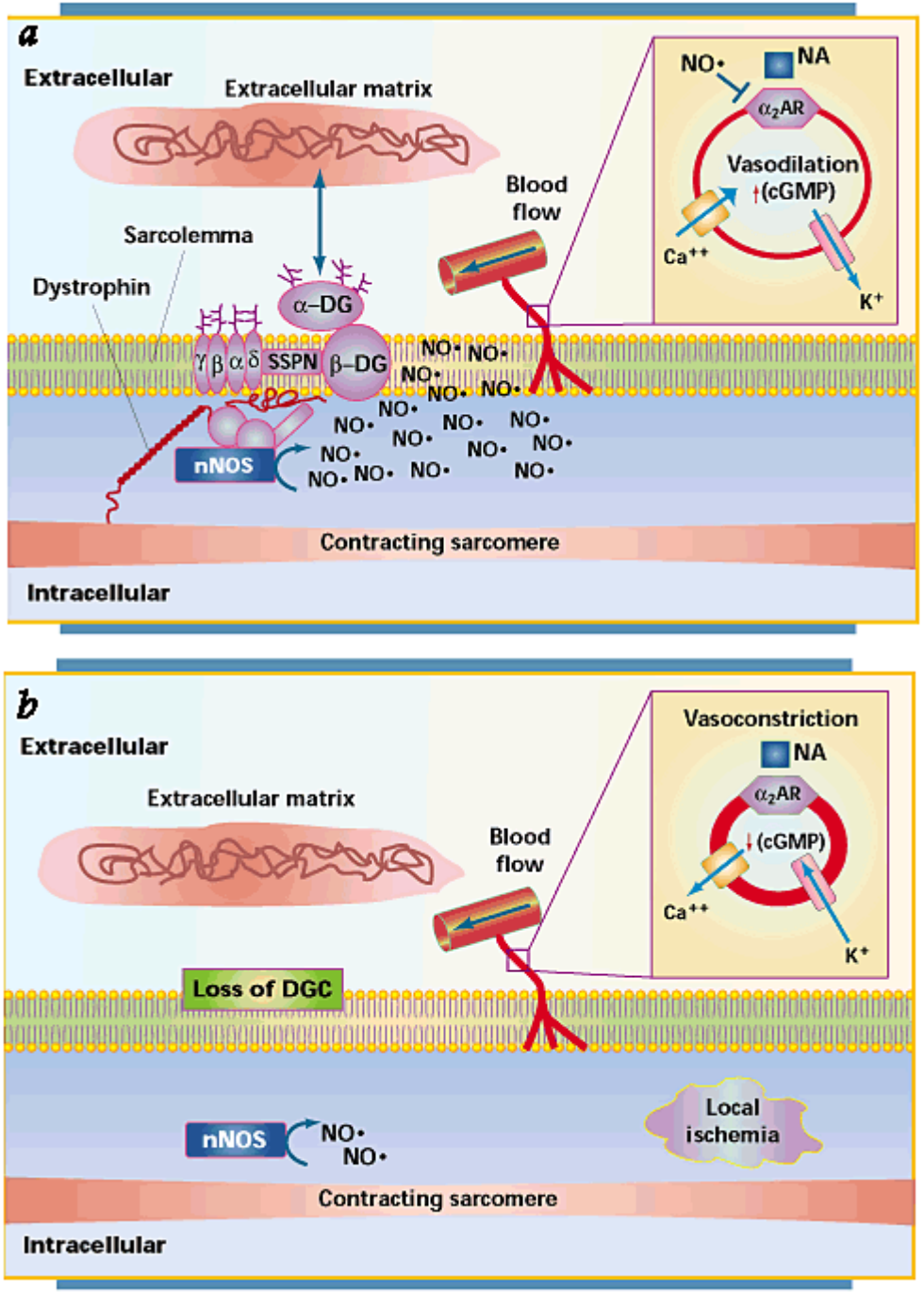
- „frameshift" mutace = posun čtecího rámce v genu pro protein dystrofin

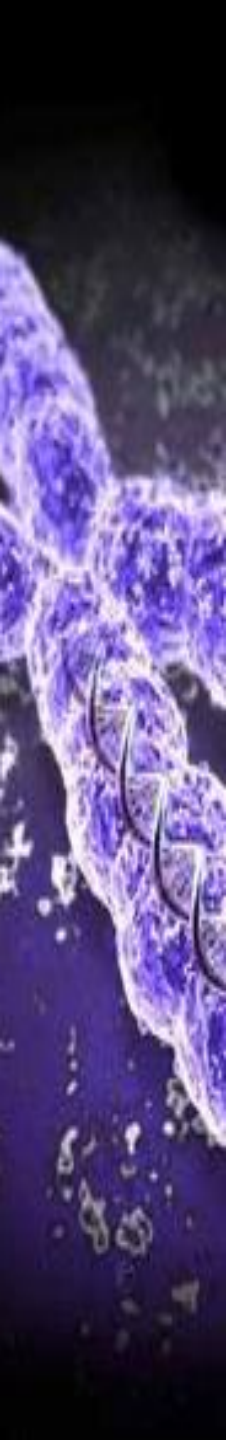


	ancestral	mutant
DNA	-CAC-TGT	-CAC-TTG-T..-
mRNA	-GUG-ACA-	-GUG-AAC-U..-
AA	-val-thr-	-ile-gly-



Duchennova svalová dystrofie

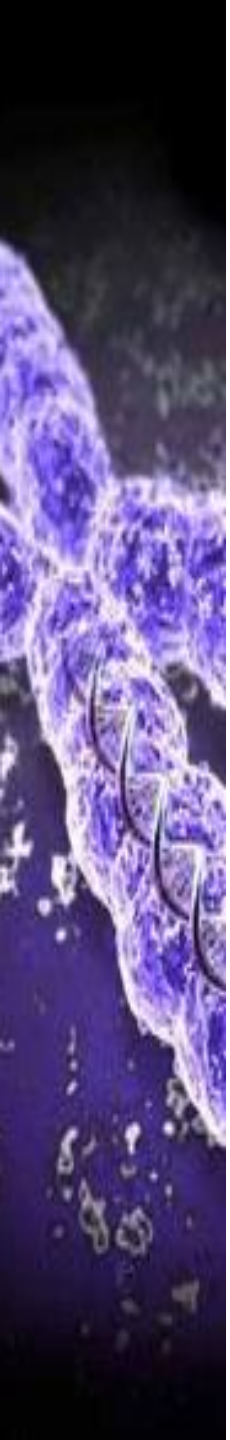




Komplexní nemoci

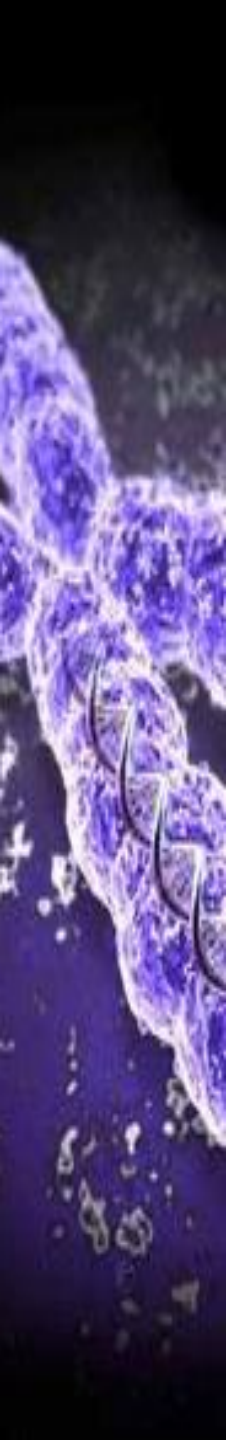
- multifaktoriální, multigenní
- roli hrají kombinace určitých genů a určitých faktorů zevního prostředí
- v klinické praxi často kolísá názor na výsledky genetických studií, které se snaží odhalit genetický podklad komplexních nemocí, od neodůvodněného očekávání nad nalezenými geny velkého účinku až po velkou skepsi vzhledem k existenci genetického podkladu v populaci četných nemocí (nad 1%), jako je v kardiologii např. esenciální hypertenze
- pokud choroba má prokazatelně familiární výskyt, musíme očekávat podíl genetického podkladu na její manifestaci
- své genetické pozadí mají i tak relativně vzdálené proximální fenotypy, jako je např. kvalita života u nemocných s chronickým kardiovaskulárním onemocněním

Každá choroba má nějaké genetické pozadí, jehož podíl na manifestaci dané choroby je různý.



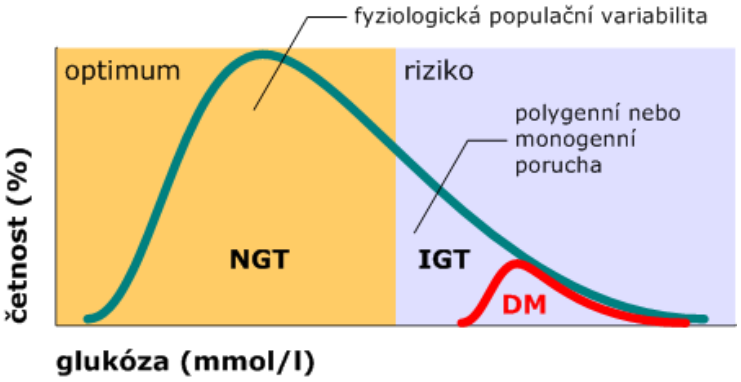
Komplexní nemoci

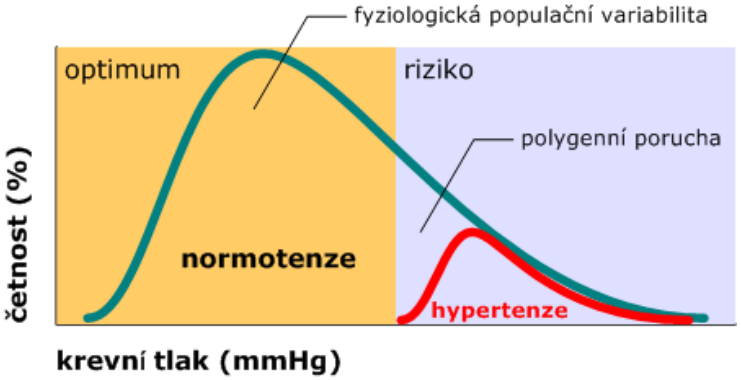
- **neúplná penetrance patologického fenotypu**
  - u určité části osob, přestože zdědí nevýhodný genotyp (zde ve smyslu souboru vícero genů) se patologický fenotyp nerozvine
- **existence fenokopií**
  - patologický fenotyp může být přítomen u lidí, kteří nejsou nosiči zmíněného genotypu
- **genetickou heterogenitou** (lokusovou a alelickou)
  - klinický obraz není specifický, ale může se rozvinout v důsledku záměn v genech ležících na různých lokusech (= lokusová heterogenita), v jednotlivých genech může být přitom vícero mutací či polymorfizmů (= alelická heterogenita)
- **polygenní dědičností**
  - predispozice k rozvoji patologického fenotypu se zvyšuje pouze při simultánním výskytu určitého souboru alel
- **vysokou populační frekvencí alel zodpovědných za rozvoj patologického fenotypu**
  - každá jednotlivá predisponující alela pravděpodobně není sama o sobě výrazně patogenní
- **spolupůsobením dalších mechanizmů přenosu**
  - mitochondriální dědičnost, imprinting

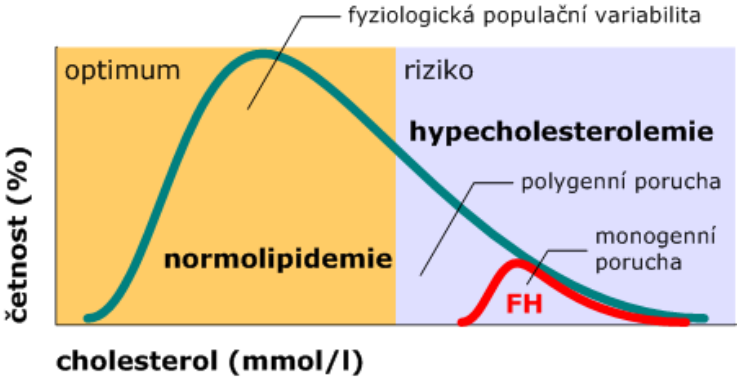


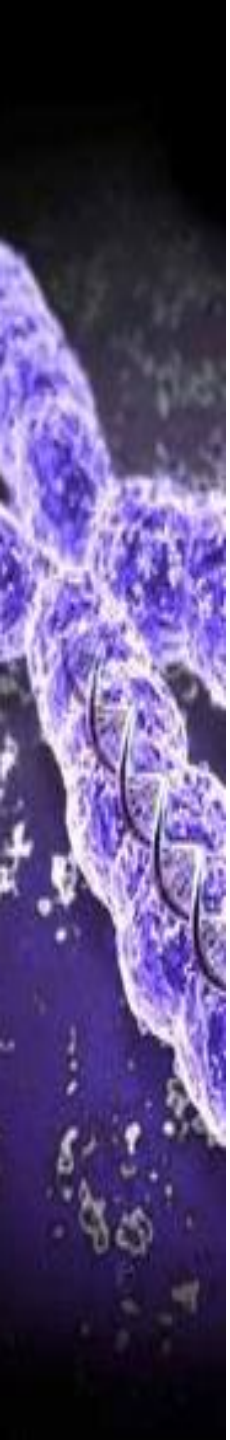
Komplexní choroby

- choroby, na jejichž vzniku a progresi se podílí „komplex“ genetických, epigenetických a vnějších faktorů
  - fenotyp nevykazuje klasickou mendelistickou dominantní či recesivní dědičnost jako důsledek změn v jediném lokusu (tzv. jednolokusových)
- **predisponující “geny”** zvyšují pravděpodobnost onemocnění, ale nedeterminuje jednoznačně jeho přítomnost
  - je nutné spolupůsobení negenetických faktorů (**prostředí**) = dieta, fyzická aktivita, kouření, …. a **interakcí genů** mezi sebou
- nejčastější komplexní nemoci
  - diabetes (1. i 2. typu)
  - dyslipidemie
  - esenciální hypertenze
  - alergie





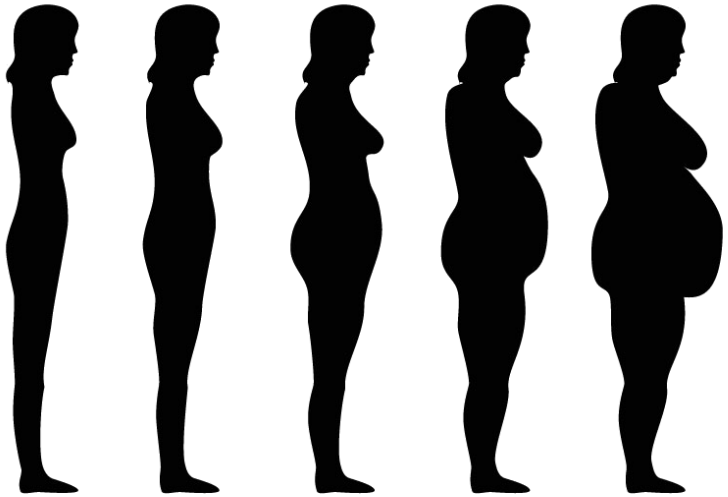




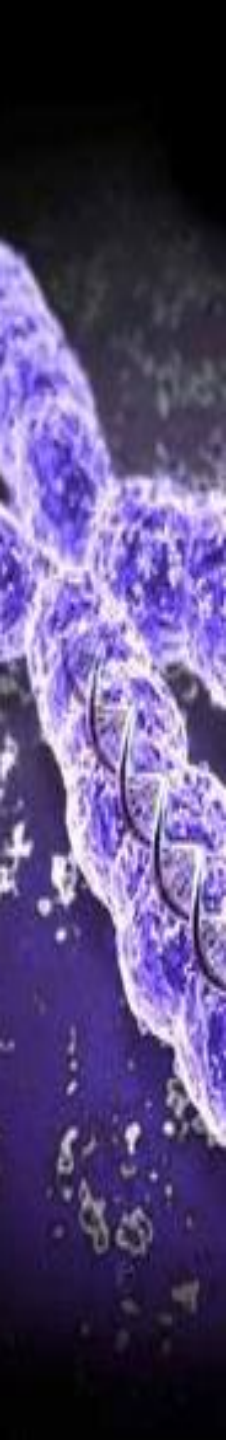
Komplexní nemoci

Obezita – Hypotéza typu „thrifty genotype"

- V současné populaci jsou selektovány alely, které favorizují přírůstek váhy a skladování tuků, aby byl zajištěn dostatek živin pro častá období nedostatku potravy.
- Při konstantně vysoké nabídce potravy a poklesu fyzické aktivity tato predispozice vede k pandemii obezity v rozvinutých zemích.



	JEDNOLOKUSOVÉ NEMOCI	KOMPLEXNÍ NEMOCI
Závažnost nemoci, manifestace	Narušují homeostázu zásadním způsobem a porucha se objevuje brzy v průběhu života. Závažnost je pro konkrétního nositele je značná. Z hlediska populační morbidity a mortality jsou však nevýznamné!	Rovněž zásadně narušují homeostázu, ovšem efekt nastupuje postupně a efekt kulminuje v pozdějším období života. Hlavní faktor ovlivňující morbiditu a mortalitu v populaci, zejm. v rozvinutých zemích!
Interakce s prostředím	Některé se vyvinou bez ohledu na prostředí, u jiných je nutný specifický etiologický činitel (např. u fenylketonurie přítomnost fenylalaninu v dietě) nebo několik činitelů (např. oxidační stres u hemolytické anemie při G6PD deficitu).	Manifestace je pravidelně výsledkem spolupůsobení komplexu genů interagujících s prostředím během vývoje, dospívání a zejm. stárnutí.
Variabilita fenotypu	Modifikující geny, někdy pohlaví (např. heredit. hemochromatóza) a efekt prostředí činí fenotyp do jisté míry variabilní, ale ne tak jako u komplexních onemocnění; efekt hlavního patologického genu vždy dominuje a kvalitativně jsou značně homogenní.	Fenotyp je výsledkem interakce efektů jednotlivých genů, přičemž charakter interakce může být heterogenní, aditivní či multiplikativní.
Penetrance	Obecně vysoká.	Typicky nekompletní (avšak pojem penetrance úzce souvisí s definicí fenotypu, což je u komplexních onemocnění svébytný problém).
Populační frekvence genetických variant	Obecně velmi nízká jako důsledek vysokého selekčního tlaku; výjimku z pravidla představují nemoci, které přináší určitou selekční výhodu (např. hereditární hemoglobinopatie v malarických oblastech).	Frekvence minoritních alel jsou vyšší, často se jedná o tzv. běžné polymorfizmy. Varianty genů jsou pravděpodobně evolučně starší; evoluční konzervace je součástí lidského vývoje.
Genetická architektura	Poměrně velmi velká lokusová homogenita (tj. stejný gen), ale jsou výjimky (např. retinitis pigmentosa, Ehlers-Danlosův syndrom aj.). Typicky extrémně vysoká alelická heterogenita (tj. různé mutace) jako důsledek očišťující selekce (např. ~160 mutací u hemofilie B, ~270 mutací u cystické fibrózy, ~700 u familiární hypercholesterolemie).	Je předmětem intenzivního výzkumu. Lokusová heterogenita bude zřejmě vyšší, alelická už by nemusela být, protože zodpovědné varianty nejsou předmětem tak silné selekce (běžné polymorfizmy).

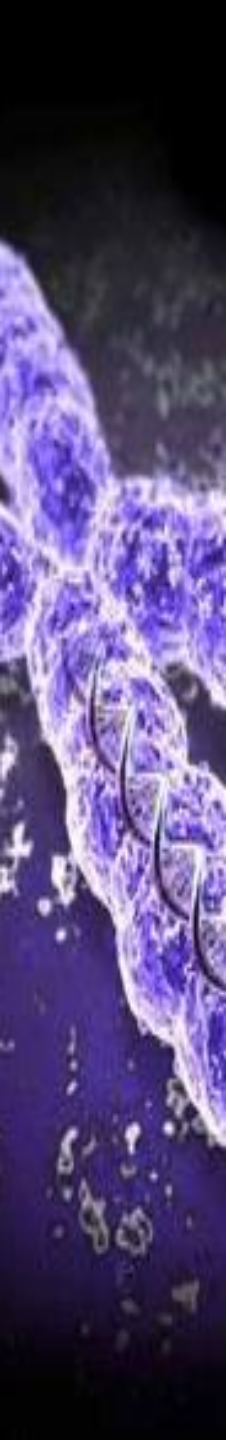


Genetické studie

- Základní debata nad genetickým podkladem nemocí logicky začíná od strategie výběru tzv. **kandidátních genů**. Tato otázka je podstatně jednodušší u mendelisticky děděných nemocí, kde se změněná funkce jednoho genu snadněji identifikuje.

- **Celogenomové asociační studie** (GWAS = Genome-Wide Association Study) vyhledávají polymorfismus jednotlivých nukleotidů nebo běžné genové variace, které se typicky chovají jako ukazatelé genových oblastí s malým efektem u stoupajícího rizika nemocí.

- Dalším významným momentem je výběr statistické metodologie, která zhodnotí sílu asociace genů s chorobami. Možnosti jsou v zásadě dvě: **linkage (vazebná) analýza a asociační studie**. K detekci specifických genetických oblastí a genů, které se účastní v transmisi nemoci, je v principu možné použít obě metody.



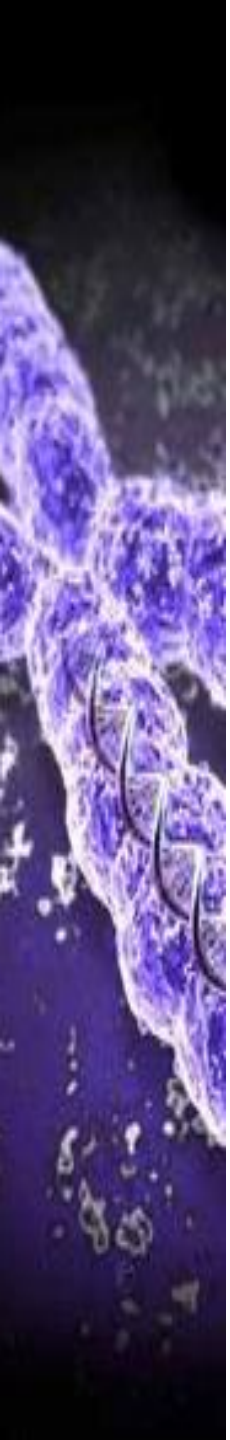
Genetické studie

Kandidátní geny

- s intermediálním fenotypem
- s klinickou manifestací nemoci
- s klinickou závažností nemoci
- s odpovídavostí nemoci na léčbu

Linkage (vazebná) analýza

- testuje kosegregaci genového markeru a fenotypu nemoci v rodině
- marker a nemoc se v dané rodině mají vždy vyskytovat spol

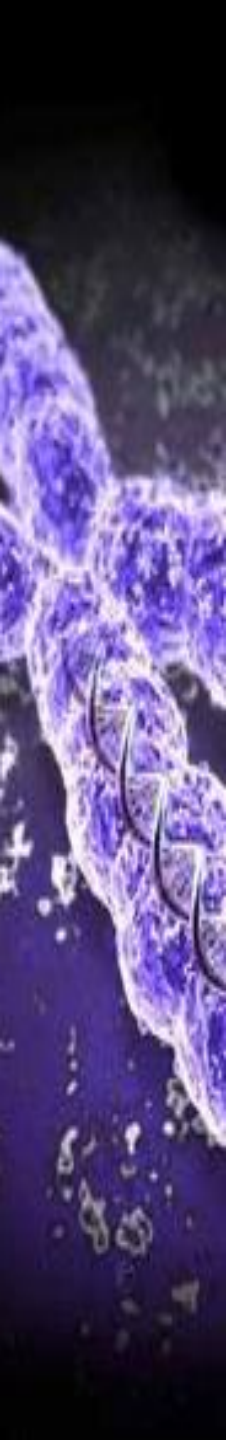


Genetické studie

Asociační studie

- vyšetřují souvýskyt markeru a nemoci na populační úrovni, tj. u nepříbuzných jedinců, obvykle srovnáním frekvencí markerů u nepříbuzných nemocných a kontrolních subjektů (studie case-control)

- statistickou sílu asociace je možno dále zvýšit obohacením o další kritéria, jako např.:
  - klinické subtypy nemoci (studie case-case)
  - závažnost nemoci
  - časný začátek nemoci
  - rizikové faktory pro nemoc včetně pohlaví
  - vhodné biologické znaky (např. plasmatické hladiny cytokinů při asociaci genetických polymorfismů v cytokinových genech; studie genotyp-fenotyp).

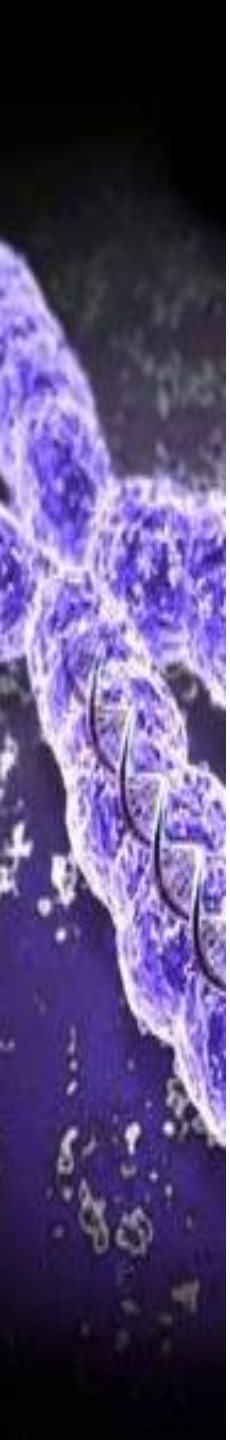


Klinická genetika

- **zabývá se diagnostikou, léčením a prevencí genetických nemocí**

- **genetické poradenství**
- **vrozené vady** – poruchy utváření orgánů, které vznikly v období nitroděložního života, i poruchy funkční (např. duševní opoždění) a poruchy na úrovni biochemické a molekulární (např. vrozené vady metabolismu)

Skupina	**Příčina**	**Zastoupení**
Primárně (geneticky)	chromozomální aberace	10 %
	monogenní dědičnost	20 %
Sekundárně (prostředí)	léky, infekce, záření	5 %
	porodní poranění	12 %
	infekce po narození	7 %
Neznámé (multifaktoriální)	geny + prostředí	46 %



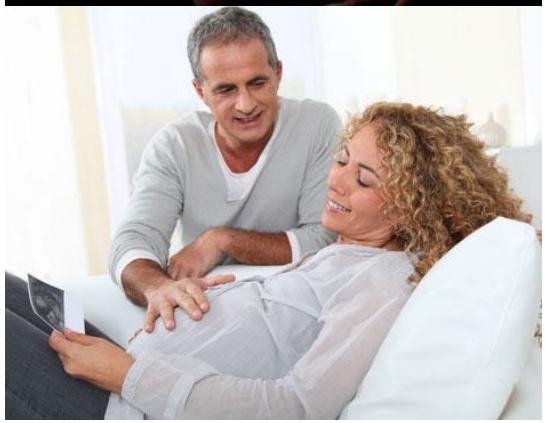
Klinická genetika

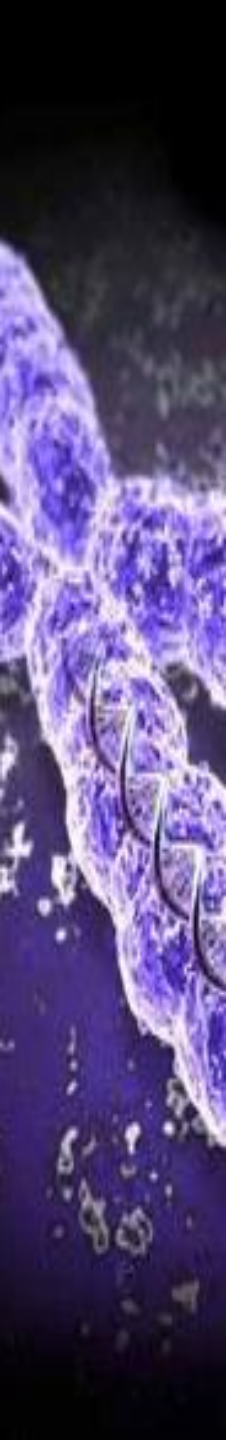
Prenatální diagnostika

- zahrnuje vyšetřovací postupy směřující k vyhledávání statisticky významné odchylky ve struktuře nebo funkci, která přesahuje hranice fenotypové variability
- umožňuje v závažných případech ukončení gravidity, u dalších je možno v předstihu plánovat optimální perinatální péči.

Rizikové faktory:

- věk matky v době porodu je vyšší jak 35 let nebo součet věku rodičů nad 70 let
- pozitivní biochemický screening z krve matky
- ultrazvukový nález, který zvyšuje riziko přítomnosti chromozomální aberace (nahromadění tekutiny v podkoží, nepřítomnost nosní kůstky, srdeční vada plodu aj.)
- přítomnost chromozomální aberace v rodině

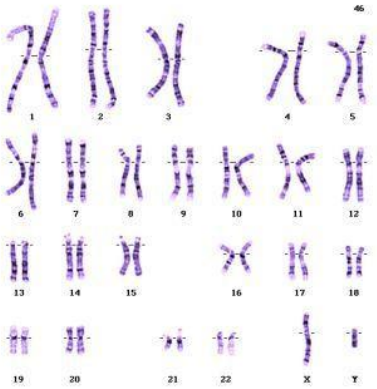


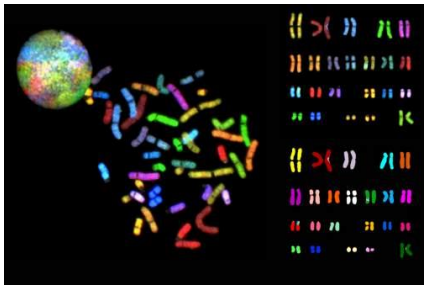


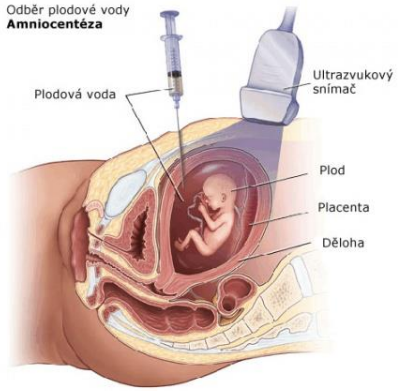
Klinická genetika

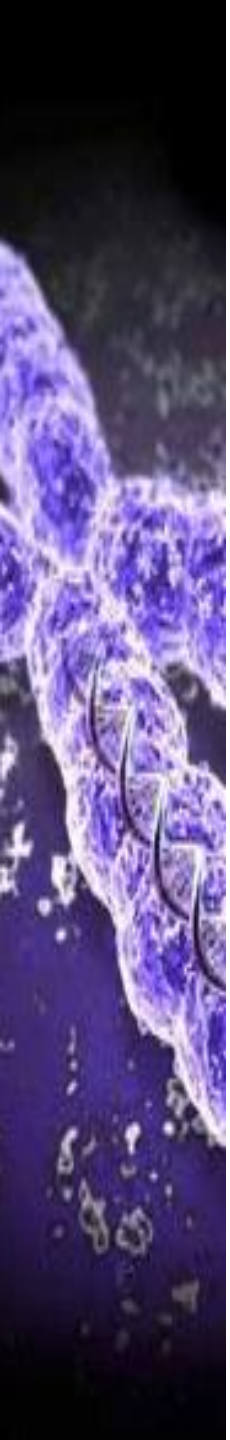
Vyšetření karyotypu plodu

- invazivní metody - amniocentéza, biopsie choriových klků, kordocentéza
- genetické vyšetření, přesněji **vyšetření cytogenetické** (neboť se vyšetřují chromozomy), ovšem nejedná se o test DNA
- **FISH** – fluorescenční hybridizace in situ
  - vazba denaturované sDNA se specifickou sondou
- **AmnioPCR** je moderní metoda sloužící ke genetickému vyšetření plodu.
  - porovnání DNA markerů matky i plodu → stanovení počtu jednotlivých chromozomů u plodu.
  - výsledek je následně potvrzen klasickým cytogenetickým vyšetřením
  - k dispozici je v současné době vyšetření 21. chromozomu - amnioPCR, nebo sada vyšetřující chromozomy 13,18, 21, X a Y- tzv. multiamnioPCR.









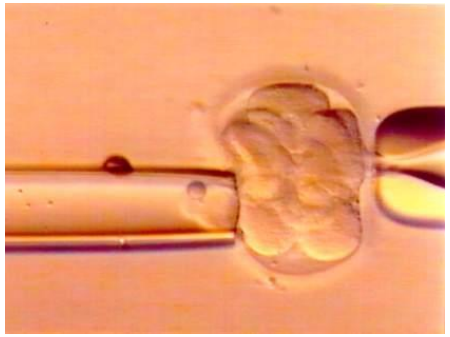
Klinická genetika

Stanovení pohlaví plodu

- volné fetální DNA kolující v krvi matky
- neinvazivní s přesností ~98 %
- od 10. týdne těhotenství
- DNA plodu z venózní krve matky
- z klinického hlediska je určení pohlaví plodu důležité v případě rizika nějaké genetické choroby vázané na určité pohlaví (např. hemofilie)

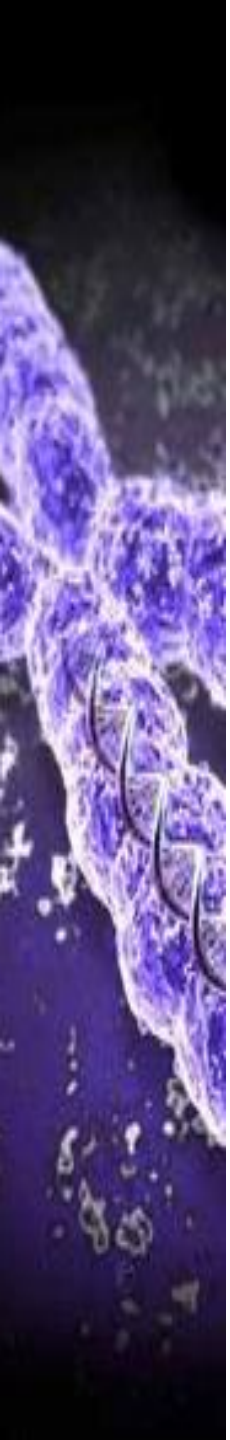
Preimplantační diagnostika

- metodu časné prenatální diagnostiky, která je vázána na techniky umělého oplodnění, za účelem minimalizace chyby genetického vyšetření je třeba k oplozování vajíček použít metody intracytoplazmatické injekce spermie
- buňky pro genetické vyšetření jsou odebírány z embrya nejčastěji ve stadiu 8 buněk nebo blastocysty



Postnatální diagnostika

- např. trombofilie viz přednáška č.8,
  celiakie, cystická fibróza…

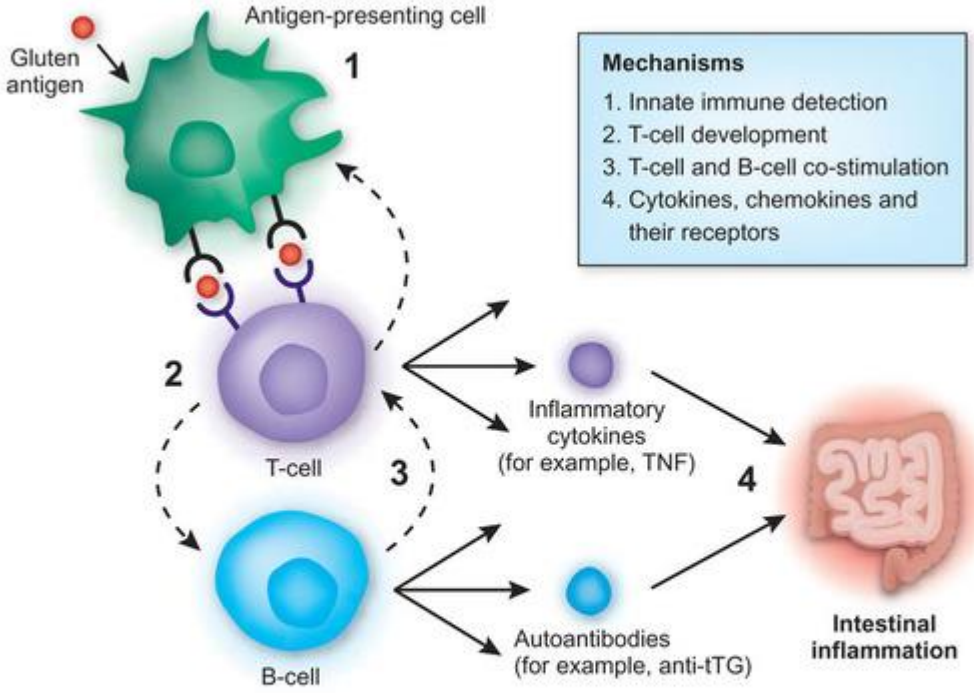


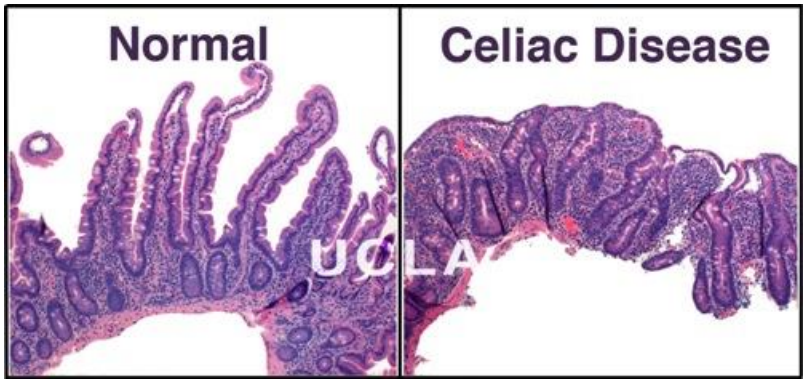
Klinická genetika

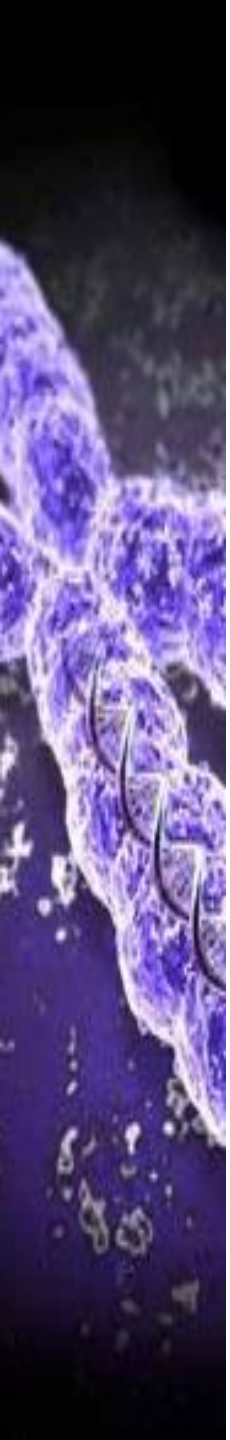
Celiakie

- celoživotní autoimunitní onemocnění způsobené nesnášenlivostí lepku (glutenu)
- lepek mění povrch sliznice tenkého střeva, mizí zde mikroklky a klky, povrch tenkého střeva snižuje, s tím se zmenšuje jeho schopnost trávení a vstřebávání živin
- příznaky: průjem, plynatost, křeče, pokles hmotnosti nebo únava, anémie z nedostatku železa, zvracení, snížená chuť k jídlu, osteoporóza, zvýšená kazivost zubů, bolesti kloubů, deprese
- od dětství, nebo později - po zátěži (nemoc, těhotenství)
- bezlepková dieta

Celiakie


Antigen-presenting cell
Gluten antigen
1
Mechanisms
1. Innate immune detection
2. T-cell development
3. T-cell and B-cell co-stimulation
4. Cytokines, chemokines and their receptors
2
T-cell
3
Inflammatory cytokines (for example, TNF)
4
B-cell
Autoantibodies (for example, anti-tTG)
Intestinal inflammation


Normal
Celiac Disease
UCLA



Celiakie

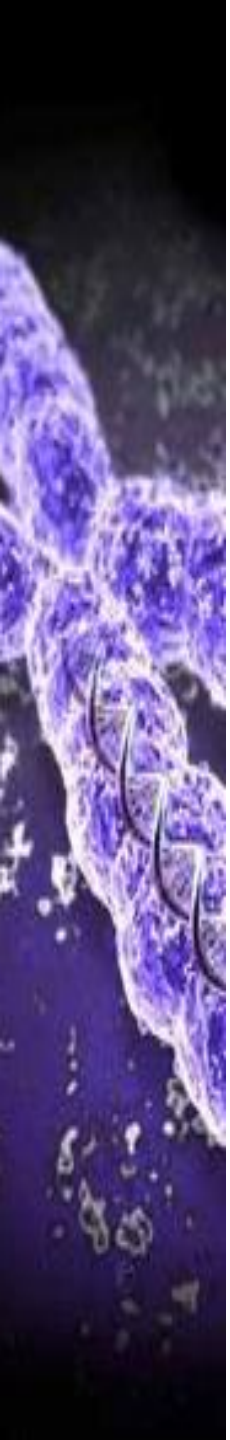
Diagnostika

- stanovení autoprotilátek k tkáňové transglutamináze v krevním séru
- při pozitivním výsledku je indikována biopsie sliznice dvanáctníku u nemocného, který konzumuje stravu s obsahem lepku

Cílený screening

- Pro osoby s rizikovými chorobami
- S podezřelými nebo nespecifickými symptomy
- S autoimunními chorobami asociovanými s celiakií (T1DM…)
- U příbuzných jedinců s celiakií

GHC GENETICS 1600Kč



Celiakie

- **AD s neúplnou penetrancí**
- Genetické vyšetření predispozičních HLA alel II. třídy kódujících
  - heterodimer DQ2 (DQA1*0501/DQB1*0201 nebo DQA1*02:01/DQB1*02:02)
  - a heterodimer DQ8 (DQA1*0301/DQB1*0302)
- **Heterodimer HLA-DQ2 se vyskytuje asi u 95 % pacientů s celiakií** (jen ve 20 % u kontrolních osob)
- Riziko pro jednotlivce spojené s přítomností heterodimeru HLA-DQ2 je 50× zvýšeno oproti průměrnému riziku v populaci.
- Menšina pacientů, kteří jsou HLA-DQ2 negativní, bývají pozitivní na HLA-DQ8, často ještě ve spojení s alelou HLA-DRB1*04.
- Genetické vyšetření má vysokou negativní prediktivní hodnotu, **nepřítomnost predispozičních alel DQ2/DQ8 téměř s jistotou (99%) vylučuje diagnózu celiakie**.
- Oproti sérologickému vyšetření protilátek vykazuje menší výskyt falešně negativních výsledků, zejména u dětí mladších 2 let a u pacientů na bezlepkové dietě.