

ČESKÉ VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V PRAZE  
FAKULTA BIOMEDICÍNSKÉHO INŽENÝRSTVÍ  
Katedra zdravotnických oborů a ochrany obyvatelstva

# BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Květen 2016

Barbora Dolejšová



**ČESKÉ VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V PRAZE**  
**FAKULTA BIOMEDICÍNSKÉHO INŽENÝRSTVÍ**  
Katedra zdravotnických oborů a ochrany obyvatelstva

---

# **Histologie arterií a vývoj aterosklerotických změn**

## **Histology arteries and the development of atherosclerotic changes**

### **Bakalářská práce**

Studijní program: Specializace ve zdravotnictví

Studijní obor: Zdravotní laborant

Vedoucí bakalářské práce: MUDr. Richard Becke

Autor bakalářské práce: Barbora Dolejšová

---

**Kladno 2016**

Katedra zdravotnických oborů a ochrany obyvatelstva

Akademický rok: 2015/2016

## Z a d á n í   b a k a l á ř s k é   p r á c e

Student: **Barbora Dolejšová**  
Obor: Zdravotní laborant  
Téma: **Histologie arterií a vývoj aterosklerotických změn**  
Téma anglicky: Histology arteries and the development of atherosclerotic changes

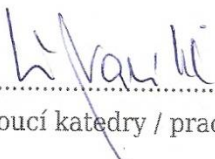
### Zásady pro vypracování:

Předmětem bakalářské práce bude studium histologie cév, konkrétně arterií, jejich popis, rozdělení a studium vzniku a vývoje aterosklerotických změn u arterií. Teoretická část práce bude zaměřena na histologický popis cévní stěny, blíže pak popis stavby a funkce endotelu cév, aterosklerotických procesů, projevu aterosklerózy, spouštěcí mechanismy aterosklerózy, místa výskytu aterosklerotického procesu. Práce bude doplněna biochemickou částí, zabývající se problematikou lipidů a cholesterolu jako hlavního faktoru aterosklerotického procesu. Praktická část bude věnována přípravě histologických preparátů arterií, jejich zhotovení a popisu. Konkrétně se bude jednat o preparát zdravé arterie, aorty a koronární arterie s aterosklerotickými změnami.

### Seznam odborné literatury:

- [1] Renate Lüllmann - Rauch, Histologie, ed. 1., Grada, 2013, 556 s., ISBN 978-80-247-3729-4
- [2] Richard Češka a kolektiv, Cholesterol a ateroskleróza, léčba dislipidemií, ed. 4., Triton, 2012, 406 s., ISBN 978-80-7387-599-2
- [3] Aleš Žák a kolektiv, Ateroskleróza: nové pohledy, ed. 1., Grada, 2011, 183, ISBN 978-80-247-3052-3

zadání platné do: 30.09.2017  
Vedoucí: MUDr. Richard Becke  
Konzultant: MUDr. Lenka Fialová, CSc.

  
.....  
vedoucí katedry / pracoviště

  
.....  
děkan

V Kladně dne 18.12.2015

## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci s názvem Histologie arterií a vývoj aterosklerotických změn vypracovala samostatně. Veškerou použitou literaturu a podkladové materiály uvádím v příloženém seznamu literatury.

Nemám závažný důvod proti užití tohoto školního díla ve smyslu §60 Zákona č.121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon).

V Kladně 20. 5. 2016

.....  
Barbora Dolejšová

## **PODĚKOVÁNÍ**

Na tomto místě bych ráda poděkovala svému vedoucímu práce MUDr. Richardovi Beckemu, z Ústavu histologie a embryologie, za veškeré konzultace, zvláště pak za jeho ochotu a čas, který si vždy na konzultace práce udělal. Také bych chtěla poděkovat MUDr. Lence Fialové CSc., z Ústavu lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky, za konzultaci biochemické části práce. Díky také patří paní laborantce Elišce Boučkové z Ústavu histologie a embryologie 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze za nápomoc při přípravě a zhotovování preparátů.

## **Abstrakt**

Ateroskleróza je degenerativní chronické onemocnění stěny arterií. Průkaz aterosklerotických změn vychází ze znalosti základní histologie cév, především arterií a jejich patologických změn. V procesu patogeneze hrají zásadní roli endotelové buňky, tunica intima, koncentrace lipidů ve stěně arterií a místní chronický zánět. Průkaz a průběh aterosklerotických změn hodnotíme na histologickém preparátu základní barvicí metodou hematoxylin - eosinem. Cílem práce bude zhotovení a popis histologických preparátů arterií, na kterých je patrný postup aterosklerotických změn v porovnání se zdravou artérií.

## **Klíčová slova**

Ateroskleróza, artérie, endotel, lipidy, buňky

## **Abstract**

Atherosclerosis is a degenerative chronic disease of a artery wall. Detection of atherosclerotic changes is based on the knowledge of the wall of vessels, mainly arteries and their pathological changes. In the process of pathogenesis play an essential role endothelial cells, tunica intima, the concentration of lipids in the artery wall and the local chronic inflammation. Detection of atherosclerotic changes can be provided on a histological slide and by a basic staining method, ex. hematoxyline – eosin. The goal will be fabricating and the description of histological slides, where is clear the procedure of atherosclerotic changes in comparision with a normal artery.

## **Key words**

Atherosclerosis, artery, endothelium, lipids, cells

## Obsah

1	Úvod .....	10
2	Současný stav .....	11
2.1	Typy cév a jejich dělení .....	11
2.1.1	Základní histologická stavba stěny cév .....	11
2.1.2	Konkrétní druhy cév a jejich histologická stavba spojená s aterosklerotickými změnami .....	13
2.2	Endotel .....	14
2.2.1	Endotel a výměna látek .....	15
2.2.2	Funkce endotelu .....	16
2.2.3	Dysfunkce endotelu .....	18
2.2.4	Subendotel .....	18
2.3	Biochemie lipidů .....	19
2.3.1	Cholesterol .....	19
2.3.2	Triacylglyceroly a mastné kyseliny .....	20
2.3.3	Lipoproteiny .....	20
2.3.4	Laboratorní biochemické ukazatele rozvoje aterosklerózy .....	21
2.4	Ateroskleróza .....	25
2.4.1	Patogeneze aterosklerotických projevů .....	25
2.4.2	Patologicko – anatomické rozdělení základních forem aterosklerózy, podle časového vývoje změn .....	27
2.4.3	Nejčastější místa vzniku aterosklerotických změn .....	29
2.4.4	Stabilní a nestabilní plát .....	30
2.4.5	Arteriální okluze, trombóza .....	30
2.4.6	Onemocnění způsobená v důsledku aterosklerotických změn .....	30
3	Cíl práce .....	31
4	Metodika práce .....	32
4.1	Fixace .....	32



4.2	Zalévání.....	32
4.3	Krájení řezů.....	34
4.4	Barvení hematoxylin - eosinem .....	35
4.5	Montování řezů .....	37
4.6	Mikroskopické pozorování.....	37
5	Výsledky.....	38
5.1	Artérie bez aterosklerotických změn.....	38
5.2	Artérie s aterosklerotickými změnami .....	40
5.3	Aorta bez aterosklerotických změn.....	43
5.4	Aorta s aterosklerotickými změnami .....	44
6	Diskuze.....	46
7	Závěr.....	50
8	Seznam informačních zdrojů.....	51
9	Seznam symbolů a zkratk .....	54
10	Přílohy.....	55
11	Seznam obrázků.....	57
12	Seznam tabulek.....	58
13	Seznam příloh .....	59

# 1 Úvod

Ateroskleróza se řadí mezi kardiovaskulární civilizační onemocnění. Mnohdy vyvolává závažnou lokální ischemii, která se může projevit v podobě mozkových či srdečních příhod. Způsobuje nejčastější příčinu úmrtí v lidské populaci po celém světě. Více jak polovina úmrtí obyvatel v České republice je způsobena právě následky aterosklerotického procesu. Téma této bakalářské práce bylo zvoleno právě z důvodů aktuálnosti tématu, zdravotní osvěty, povědomí a motivace ke změně zdravějšího životního stylu naší populace.

Jednou z možností hodnocení a průkazu aterosklerotických změn na úrovni buněk a tkání, jakožto nejvýznamnějších primárních činitelů celého patologického procesu je hodnocení, které vychází ze znalostí vědního oboru histologie, konkrétně histologie cév.

Předmětem této bakalářské práce je teoretický histologický popis základní úrovně a stavby cév, konkrétně artérií elastického a svalového typu, kde aterosklerotický proces probíhá. Autor bakalářské práce se zaměřuje také na disfunkci endotelových buněk, které se podílejí na aterosklerotickém procesu. Teoretická část práce je věnována i patogenezi samotného aterosklerotického procesu. Pro pochopení tématu je nutná znalost nejen histologické, ale také i biochemické stránky problému a to zastoupení a funkce lipidových částic, podílejících se na vzniku aterosklerotických změn.

Následně autor pomocí histologických technik popisuje závažnost a postup aterosklerotických změn na zvolených preparátech artérií a aorty. Prakticky provedená metoda průkazu aterosklerotických změn spočívá v samotné přípravě a zhotovení histologických preparátů. Zhotovení preparátů zahrnuje jednotlivé kroky, kterými jsou fixace tkání, zalévání tkání, krájení řezů preparátů, barvení preparátů, montování a následné mikroskopické pozorování a odečítání histologických struktur u zpracovaných preparátů.

Ke zhotovení preparátů bude využita základní barvicí metoda, a to barvení hematoxylin - eosinem. Metoda využívá interakce bazofilních struktur s hematoxylinem a acidofilních struktur s eosinem. Základní barvení hematoxylin – eosin se plně využívá v laboratorní praxi ke klinickému hodnocení tkání a podléhá standardním operačním postupům laboratoří.

## 2 Současný stav

Krevní cévy jsou nedílnou součástí kardiovaskulárního systému, který se skládá kromě cév také z pumpy, kterou reprezentuje srdce.

Cévy představují základní transportní cestu pro jednu z nejdůležitějších krevních tekutin v našem těle, krev. Zajišťují krevní oběh v těle. Jejich stavba musí být dokonale přizpůsobena toku krve, proto nemají cévy jednotnou stavbu. Jednotlivé typy cév se liší především tloušťkou svojí stěny a složením jednotlivých vrstev stěny, které hrají zásadní roli ve fyziologické funkci cév.

### 2.1 Typy cév a jejich dělení

Cévy se rozdělují na arterie, vény a kapiláry. Nejednotná stavba zaručuje absolutní přizpůsobivost vůči podmínkám, kterým jsou cévy vystaveny.

Pokud bychom chtěli toto rozdělení dále rozvinout dle odlišné stavby stěn těchto cév, mohli bychom rozdělit cévy do těchto skupin: arterie elastického typu (tj. aorta a její největší větve), arterie svalového typu, arterioly, kapiláry, venuly, vény malého kalibru, vény středního kalibru, vény velkého kalibru (Dylevský, 2009, s. 389-395).

#### 2.1.1 Základní histologická stavba stěny cév

Ve většině cév rozlišujeme tři základní vrstvy stěny cév.

##### **Tunica intima**

Jedná se o nejvnitřnější vrstvu, která má za úkol vystýlat vnitřní prostor cévy. Jde o místo styku se samotnou krví. Tunica intima hraje největší roli při rozvoji aterosklerotického procesu.

Tunica intima obsahuje ploché endotelové buňky, které nasedají na bazální membránu a tvoří tak jednovrstevný epitel. Endotelové buňky představují bariéru mezi vnitřním lumenem cévy a dalšími vrstvami stěny cévy. Pod endotelovými buňkami je přítomno i subendotelové vazivo. Tunica intima je u arterií zakončena elastickou blankou (membrana elastica interna). Elastická vlákna membrány jsou syntetizována díky buňkám hladké svaloviny z vrstvy tunica media.

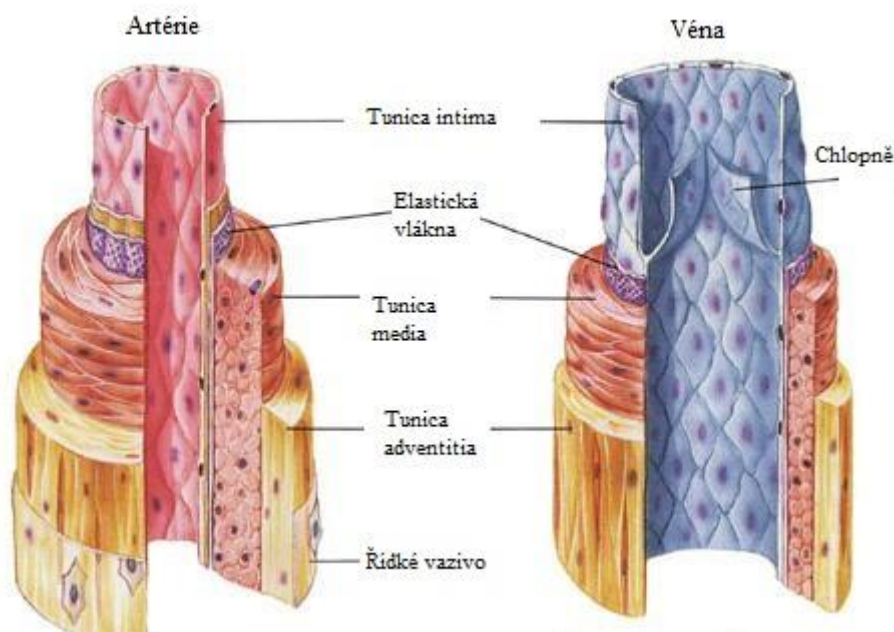
## Tunica media

Tunica media představuje střední vrstvu stěny cév. Tato vrstva je nejsilnější u arterií. Obsahuje obzvláště elastické membrány a hladké svalové buňky u arterií elastického typu a pouze hladké svalové buňky u arterií svalového typu. Dále se zde nachází síť retikulárních vláken kolem hladkých svalových buněk a amorfni složky mezibuněčné hmoty (proteoglykany a glykoproteiny). Hladké svalové buňky jsou zodpovědné za produkci elastinu, fibrinu a kolagenu III a jsou v této vrstvě uspořádány cirkulárně. Vrstvu média u arterií ukončuje membrana elastica externa.

## Tunica adventitia (externa)

Tunica adventitia je nejzevnější vrstvou stěny cév. Je tvořena řídkým kolagenním vazivem, které má hlavně ochrannou, podpůrnou a fixační funkci. Cévy tak zůstávají dobře ukotveny v okolních tkáních, jsou dobře izolovány. V tunica adventitia jsou přítomna elastická vlákna, fibroblasty, proteoglykany, adipocyty a vasa vasorum. Vasa vasorum jsou drobné arterie a vény, které zásobují tunicu adventitii a přibližně dvě třetiny tunici mediae u arterií elastického typu.

Důležitou roli hrají i další podpůrné struktury, kterými jsou nervy a lymfatické cévy. Tyto struktury prostupují adventitii. Nervové zakončení v tunica adventitia umožní vazokonstrikci a reakci cévy (Pakurar and Bigbee, 2009, s. 95-98; Martínek a Vacek, 2009, s. 11-19; Lüllmann, 2012, s. 211-222).



Obrázek 1 – Schéma stavby arterií a vén ([www.kardiosystem.websnadno.cz](http://www.kardiosystem.websnadno.cz))

## **2.1.2 Konkrétní druhy cév a jejich histologická stavba spojená s aterosklerotickými změnami**

### **Arterie elastického typu**

Mezi arterie elastického typu řadíme aortu a další velké tepny v blízkosti srdce. Jejich funkcí je především pružné přizpůsobení při pulzaci krve, která opouští srdce. Během systoly je krev prudce vypuzena ze srdeční komory a arterie elastického typu na to reagují rozepnutím elastických membrán. Při diastole se elastické membrány vrací do původního stavu.

Tunica intima arterií elastického typu obsahuje kromě endotelových buněk také podélně orientované buňky hladké svaloviny, nacházející se v subendotelové vrstvě. Subendotel obsahuje kromě svalových buněk také poměrně velké množství mezibuněčné amorfni hmoty.

Tunica media představuje velice důležitou strukturu pro arterie elastického typu. Je to nejsilnější vrstva, která je tvořena opravdu mohutnou vrstvou hladkých svalových buněk, elastickými membránami a v neposlední řadě retikulárními vlákny. Elastické lamely jsou koncentricky uspořádané a značně fenestrovány. Mezi nimi je vmezeřená hladká svalovina. Hladká svalovina je k elastickým lamelám připojena pomocí mikrofibril. Tato pevně ukotvená soustava pracuje jako celek, je velmi pevná a proto dokáže odolávat napětí při systole a diastole krevního proudu. Celek ještě vyztužují výše zmiňovaná kolagenní vlákna. Celý soubor může obsahovat až několik desítek vrstev, u hrudní aorty dospělého člověka nacházíme až 50 elastických blanek, které s věkem přibývají.

V srdci a u výstupu aorty ze srdce se na stavbě vrstvy tunica media také podílejí kardiomyocyty, buňky srdeční svaloviny. Mají excentricky uložené jádro, jsou velice protáhlé a vzájemně propojené interkalárními disky tak, že tvoří kompaktní síť, která dokáže synchronně šířit srdeční vzruch.

Membrana elastica interna a externa nejsou nijak nápadně rozeznatelné od elastických vrstev v tunica media.

Tunica adventitia není nijak odlišná od obecné stavby. Obsahuje pouze větší množství vasa vasorum, které zasahuje až do vrstvy tunica media a zajišťuje perfektní zásobení cévní stěny (Ross and Pawina, 2005, s. 372-378; Lüllmann, 2012, s. 211-222; Mescher, 2010, s. 189-191).

## **Arterie svalového typu**

Arterie svalového typu označují zbylou většinu arterií v těle, přivádí krev do orgánů, tvoří jemnější struktury tzv. arterioly, vytváří periferní cévní systém.

Tunica intima obsahuje endotelovou vrstvu, slabou vrstvu subendotelového vaziva, které je tvořeno z největší části mezibuněčnou hmotou. Subendotelové vazivo tedy neobsahuje významné množství svalových buněk.

Tunica media obsahuje cirkulárně uspořádané buňky hladké svaloviny, které jsou uloženy téměř kompaktně. Kompaktní uložení je charakteristickým znakem arterií svalového typu. Buňky hladké svaloviny ve svém okolí obsahují retikulární a elastická vlákna. Tato vlákna si samy syntetizují.

Membrana elastica interna a externa je jasně a zřetelně vidět. Tyto blanky mohou být lehce fenestrované (Ross and Pawina, 2005, s. 372-378; Lüllmann, 2012, s. 211-222; Mescher, 2010, s. 189-191).

## **2.2 Endotel**

Endotel je jednovrstevný plochý dlaždicový epitel, který tvoří kompaktní vrstvu vnitřní stěny cévy, vystýlá jej. Endotelové buňky jsou mezenchymového původu, nasedají v jedné vrstvě na bazální membránu. Dokonalé upevnění endotelových buněk k bazální membráně zajišťují hemidesmosomy.

Endotelové buňky jsou ploché a protáhlé buňky, jejichž orientace je dokonale přizpůsobena toku krve v cévě. Dlouhá osa buňky kopíruje tok krve. Velikost endotelových buněk je zhruba 10  $\mu\text{m}$  na šířku, 30  $\mu\text{m}$  na délku buňky. Na okrajích jsou endotelové buňky tenké, v oblasti uložení jádra jsou buňky mírně vyvýšené. Buněčná spojení endotelových buněk představují nejčteněji zonulae occludentes, dále pak nexy a desmosomy. Charakteristická soudružnost endotelových buněk, je předpokladem pro přirozený chod krevní cirkulace v těle a pro celkovou homeostázu organismu.

Endotel působí svojí charakteristikou jednak jako hlavní bariéra mezi subendotelovou vrstvou a lumenem, ale také funguje jako hlavní komunikační spojení mezi signály, které přicházejí z lumina cévy (Paulsen, 2004, s. 157-160; Konrádová, Vajner a Uhlík, 2005, s. 115-121).

### 2.2.1 Endotel a výměna látek

Jediným místem, kde je umožněn proces výměny látek a potřebných molekul, jsou kapiláry, jejichž cévní stěna obsahuje pouze endotelovou vrstvu. Plyny a malé molekuly (molekuly o velikosti přibližně 1,5 nm) prochází endotelem volně díky svému hydrofobnímu charakteru a koncentračnímu spádu prostou difuzí. Celý proces probíhá pasivně. Voda a další molekuly (glukóza, aminokyseliny, elektrolyty), které mají hydrofilní charakter, prochází endotelem aktivním způsobem, tedy pinocytózou. Tato endocytóza je nezávislá na proteinu klatrinu.

Větší molekuly, např. lipoproteiny jsou vstřebávány endocytózou závislou na klatrinu. Klatrin je protein, který vytváří obal na povrchu přijímané látky a umožní vznik vesikul, které jsou následně endocytovány. Pinocytotické vezikuly jsou transportovány dvojitým způsobem. Transcelulárně, tj. přímo přes buňku k bazální membráně, nebo paracelulárně, tj. pod buněčná spojení na laterální stěnu buněk (Lüllmann, 2012, s. 211-222).

Stupeň permeability endotelových buněk se liší typem kapilár. Rozlišujeme kapiláry typické a atypické:

Typické kapiláry jsou:

- se souvislou endotelovou výstelkou;
- kapiláry s fenestracemi;
- kapiláry s póry.

Atypické kapiláry jsou krevní sinusoidy.

Kapiláry se souvislou endotelovou výstelkou mají dokonale těsně přiléhající buňky bez fenestrací, a tedy nízkou permeabilitu. Endotelové buňky obsahují tight junction a také četné cytoplazmatické vesikuly, které slouží k transcelulárnímu přenosu velkých molekul. Souvislý endotel patří mezi nejčastější typ, typickým výskytem tohoto epitelu jsou kapiláry v centrální nervové soustavě a periferní nervové soustavě. Vlastnosti souvislého endotelu jsou typické pro hematoencefalickou bariéru.

Kapiláry s fenestracemi obsahují endotelové buňky s drobnými otvory s negativním nábojem, které slouží pro okamžitý prostup vody a malých molekul. Otvory fungují jako sítko, které bezprostředně propouští drobnější částice, ovšem větší částice nepropustí. Fenestrace obsahují tenkou diafragmu. Kapiláry s fenestracemi jsou např. v trávicí trubici.

Kapiláry s póry jsou charakteristické tím, že fenestrace v endotelových buňkách neobsahují diafragmu. Tyto kapiláry tvoří pouze glomeruly v ledvinných těliscích.

Atypické krevní kapiláry, tedy krevní sinusoidy jsou charakterizované průměrem 30 - 40  $\mu\text{m}$ , absencí souvislé bazální membrány a velkými transcelulárními otvory. Tento endotel je prakticky volně prostupný. Vyskytují se v kostní dřeni, játrech, adenohipofýze a Langerhansových ostrůvcích v pankreatu (Konrádová, Vajner a Uhlík, 2005, s. 115-121).

### **2.2.2 Funkce endotelu**

Funkcí endotelu je řízený a kontrolovatelný transport výměnných látek mezi tkáněmi a krevním systémem. Funguje jako difuzní selektivní bariéra. Brání pasivnímu prostupu makromolekul z plazmy. Pohlčení právě zmiňovaných makromolekul z plazmy probíhá endocytózou, která je závislá na klatrinu. Tento proces také nazýváme receptory zprostředkovaná endocytóza. Celý proces je zmiňován výše v předchozím oddílu.

Standardně tj. fyziologicky působí endotel vysoce antitrombogenně. Za fyziologických podmínek endotel neumožní přilnutí jakýchkoliv částic na svůj povrch díky glykokalyxu, reguluje tak trombózu a trombolýzu. Endotelové buňky totiž do glykokalyxu uvolňují proteoglykan heparansulfát, který působí právě antikoagulačně. Heparansulfát vytváří vazebné místo pro zachycení inhibitoru koagulace, antitrombinu.

Endotel dokáže regulovat průsvit cév. Spolu s vrstvou tunica media, která obsahuje hladké svalové buňky, působí vasokonstrikčně či vasodilatačně. Celý proces probíhá díky těsnému kontaktu endotelových buněk a vrstvě svalových buněk v tunica média. Je to tzv. myoendotelový kontakt. Endotel zvyšuje účinky dilatace a konstrikce tím, že secernuje vasoaktivní faktory, kterými jsou např. oxid dusnatý, endoteliny, prostacykliny, růstové faktory, stimulační faktory hemopoetické řady či heparin.

Významnou vasoaktivní látkou je oxid dusnatý (NO). Oxid dusnatý je aktivován několika mnoha způsoby, např. smykovým třením endotelu společně s krevním proudem, hypoxií a dalším lokálním působením ostatních látek. Má velmi silné vasodilatační účinky, po aktivaci oxidu dusnatého dochází k inhibici exprese adhezivních molekul a inhibici místní agregace trombocytů. Oxid dusnatý také zamezuje migraci myocytů z vrstev tunica media.



Obdobně jako oxid dusnatý účinkuje vasodilatační látka prostacyklin. Prostacyklin je látka produkovaná endotelem za poměrně srovnatelných okolností, jako oxid dusnatý. Tyto látky vzájemně posilují vasodilatační efekt.

Jako příklad opačně působící vasokonstrikční látky můžeme uvést již zmiňovaný endotelin. Syntéza endotelinu je zahájena stimulací aterogenních látek, např. trombinu nebo lipoproteinových látek např. oxidovanými LDL. Endotelin podporuje vasokonstrikční proces zvýšenou proliferací myocytů v cévní stěně.

Pomocí povrchových molekul, kterými jsou např. selektiny a další adhezní molekuly, působí endotel jako regulátor migrace leukocytů a zahajuje tím např. imunitní reakci organismu.

Endotel se také účastní hemokoagulačních a trombogenních procesů. Slouží jako bariéra mezi trombocyty a subendotelovým vazivem. Při porušení endotelových buněk se začne uvolňovat srážlivý faktor plasminogen a následuje proces agregace trombocytů v místě poranění, vzniká trombus.

Von Willebrandův faktor je glykoprotein, který se nachází ve specifických Weibelově – Paladeho tělískách v endotelových buňkách. Působí aterogenně a protrombogenně. Faktor je produkován již aktivovaným endotelem. Weibel – Paladeho tělíška obsahují také molekuly P-selektinů, které se exostózou vyplaví.

Na povrchu endotelových buněk jsou receptory pro lipoproteiny. Enzymaticky jsou lipoproteiny rozloženy na cholesterol. Endotel exprimuje receptory pro LDL molekuly. Dochází k oxidaci volnými radikály (nejčastěji kyslíkaté a dusíkaté radikály) v endotelových buňkách. Uvolněné molekuly cholesterolu jsou pohlceny makrofágy, dostávají se do subendotelové vrstvy. Problematika bude blíže rozebírána v dalších kapitolách.

Funkcí endotelu je také přeměna angiotensinogenu I na angiotensinogen II, což vede k ovlivnění kůry nadledvin, následné produkci hormonu aldosteronu. Výsledkem celé kaskády dějů je zvýšení krevního tlaku v luminu cév.

V neposlední řadě má endotel důležitou sebeobnovovací funkci, a to syntézu částí bazální membrány, na kterou endotelové buňky nasedají. Jde o látky laminin, kolagen IV a heparansulfát (Karásek, Vaverková a kol., 2004; Malík, 2003; Lüllmann, 2012, s. 211-222).

### 2.2.3 Dysfunkce endotelu

Dysfunkcí endotelu rozumíme narušení několika zásadních funkcí endotelu, které za běžných fyziologických podmínek endotel provádí. Dysfunkce patří mezi jeden z hlavních spouštěcích mechanismů aterosklerózy. Dysfunkce má také nezanedbatelný vliv na dlouhodobý aterosklerotický proces.

Dysfunkce endotelu je podmíněna několika faktory, které rizikově působí na zdraví jedince. Tyto negativní faktory jsou zároveň rizikové faktory samotné aterosklerózy. Patří mezi ně např. kouření, diabetes mellitus, hyperlipidemie, arteriální hypertenze, obezita, hypoxie, stárnutí a další (Od endoteliální dysfunkce k ischemické chorobě srdeční, 1999, s. 11-45).

Endoteliální dysfunkce jsou charakterizované několika vasospastickými, prokoagulačními a aterogenními procesy (nejčastěji také dochází ke zvýšené propustnosti cévní stěny, ubývá ochranná a filtrační funkce endotelu). Endotel přestává produkovat potřebné množství vasodilatačních faktorů, antitrombotických látek.

Jedním z problémů, který při dysfunkci endotelu nastává, je vyšší průnik okolních látek do cévní stěny arterií, např. aterogenních lipidů. Dochází ke zvýšenému usazování monocytů a jejich přeměně v makrofágy a dále v pěnové buňky. (I v konečných fázích aterosklerózy je dysfunkce endotelu příčinou kumulace makrofágů a pěnových buněk v aterosklerotickém plátu.) Koncentrace oxidu dusnatého je znatelně nižší právě z důvodu jeho nízké produkce endotelem, nebo také z důvodu jeho zvýšené spotřeby tkání.

Dysfunkce endotelu má za následek zvýšenou pravděpodobnost vzniku dalších kardiovaskulárních onemocnění, jako je např. hypertenze, sepse aj. (Karásek, Vaverková a kol., 2004; Malík, 2003).

### 2.2.4 Subendotel

Endotelové buňky produkují extracelulární hmotu, která vytváří subendotelové vazivo. Vrstvy subendotelu během věku přibývají. Na preparátu arterií dětského věku můžeme pozorovat, že endotel přímo nasedá na membrana elastica interna, subendotelová vrstva je velice slabá, nebo žádná. V průběhu života se v subendotelu začínají objevovat také buňky hladké svaloviny. Buňky hladké

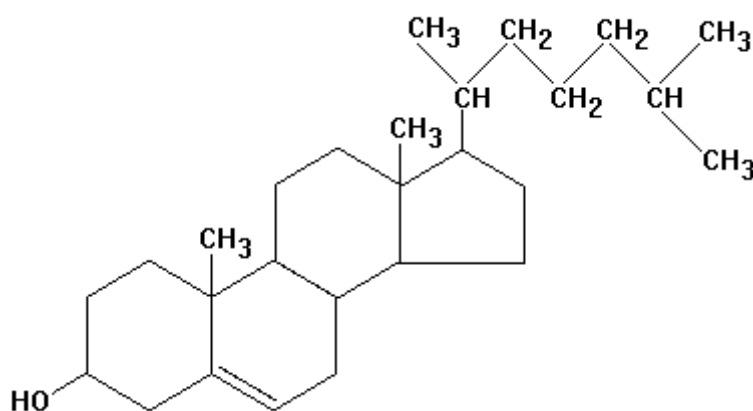
svaloviny prostoupí do subendotelové vrstvy z tunica media a mají za úkol tvorbu extracelulární hmoty, nikoli kontrakci.

Subendotelová vrstva je dalším místem rozvoje aterosklerotických změn (Ross and Pawina, 2005, s. 372-378).

## 2.3 Biochemie lipidů

### 2.3.1 Cholesterol

Cholesterol (cholest-5-en-3- $\beta$ -ol) je lipidová molekula, řadí se do skupiny sterolů.



Obrázek 2 – Schéma stavby volného cholesterolu ([www.prirodovedci.cz](http://www.prirodovedci.cz))

Má amfifilní charakter, který je podmíněn jeho strukturou. Polární část molekuly je reprezentovaná hydroxylovou skupinou a steroidní jádro s postranním uhlovodíkovým řetězcem má hydrofobní vlastnosti.

V organismu se cholesterol může vyskytovat samostatně, nebo vázaný ve formě esterů cholesterolu s mastnými kyselinami, jako je např. kyselina linolová a linolenová. V krvi je součástí lipoproteinů. Cholesterol se jako volný vyskytuje v buněčných membránách.

Organismus cholesterol přijímá exogenně z potravy přes trávicí soustavu, nebo může být syntetizován přímo, tj. endogenně v organismu z molekuly acetyl-koenzymu A. Tato syntéza většinou probíhá v játrech nebo v tenkém střevě. Je to velice náročný sled 20 reakcí, které dokáže provést každá buňka v těle (Poledne, 1993, s. 7-19; Zima, 2013, s. 169-179; Soška, 2001, s. 13-38).

### 2.3.2 Triacylglyceroly a mastné kyseliny

Triacylglyceroly, dále jen TAG, jsou látky lipidové povahy, které jsou součástí našeho organismu. Představují 95 % lipidů v našem organismu a tvoří hlavní zásobu energie v těle. Struktura TAG je složena z glycerolu, jehož OH skupiny jsou esterifikovány třemi mastnými kyselinami (MK). Enzymy lipázy hydrolyzují esterové vazby a uvolňují mastné kyseliny z vazby TAG.

Mastné kyseliny jsou monokarboxylové kyseliny, které se nacházejí v molekule TAG v nasycené, nebo nenasycené podobě. Nasycené MK jsou užívány jako zdroj energie, nebo jsou ukládány do tkání. Člověk si je dokáže sám vytvářet, jsou tedy neesenciální. Příkladem mohou být mastné kyseliny, jako jsou kyselina stearová či palmitová. Nenasycené formy MK obsahují dvojně vazby. Poloha a počet dvojných vazeb ovlivňuje výsledné biologické a fyzikálně – chemické vlastnosti molekul mastných kyselin.

Mononenasyčené kyseliny obsahují pouze jednu dvojnou vazbu.

Některé nenasycené MK jsou do organismu přiváděny pouze potravou, jsou pro tělo esenciální. Vyskytují se v rostlinných olejích. Příkladem mohou být kyselina linolová,  $\alpha$ -linolenová, arachidonová (Beránek, Tichý a kol., 2013, s. 49-53; Voet and Voet, 2011, s. 386-389).

### 2.3.3 Lipoproteiny

V krvi jsou lipidy transportovány prostřednictvím bílkovinných nosičů, neboť jako nepolární látky nejsou schopny samostatného pohybu. Komplexy proteinů s lipidy se nazývají lipoproteiny. Bílkovinná složka lipoproteinu se označuje apolipoprotein.

Lipoproteiny rozdělujeme do několika skupin - dle jejich pohybu v elektrickém poli při elektroforetickém rozdělení částic, nebo při dělení ultracentrifugací.

Při elektroforéze zůstávají nejblíže startu největší lipoproteinové částice (75-1200 nm), chylomikrony. Následně putují frakce beta, prebeta a nejrychleji se pohybuje frakce alfa lipoproteinů.

Ultracentrifugace rozdělí lipoproteiny podle hustoty částic do následujících skupin. Hustota částic závisí na poměru bílkovinné a lipidové složky lipoproteinu. Rozlišujeme chylomikrony (CH), lipoproteiny o velmi nízké hustotě (VLDL), lipoproteiny

o střední hustotě, tedy intermediární částice (IDL), lipoproteiny o nízké hustotě (LDL), lipoproteiny o vysoké hustotě (HDL).

Chylomikrony jsou největší lipoproteinové částice, ale jejich hustota je nejmenší ze všech lipoproteinových skupin. Většinový podíl na stavbě chylomikronů mají triacylglyceroly, bílkovinná část chylomikronů představuje pouhá 1-2 %. Triacylglyceroly jsou tímto způsobem transportovány ze střeva do krevního řečiště, potažmo lymfatického systému. Působením lipoproteinové lipázy, která je zmíněna v předchozích kapitolách, dochází v endotelu krevních kapilár k rozštěpení TAG v chylomikronech a uvolňují se mastné kyseliny.

VLDL, lipoproteiny o velmi nízké hustotě mají vyšší hustotu než chylomikrony a vznikají převážně v játrech. Bílkovinné zastoupení je okolo 10 %, zbytek tvoří lipidy, převážně triacylglyceroly. Lipoproteinová lipáza hydrolyzuje triacylglyceroly ve VLDL a vzniká tak IDL lipoprotein, později LDL lipoprotein.

LDL, lipoproteiny o nízké hustotě mají opět vyšší hustotu, nežli předchozí chylomikrony a VLDL. Vznikají hydrolýzou triacylglycerolů z IDL lipoproteinů. Jsou složeny zhruba z 20 % z bílkovinné části a z 80 % z lipidů, mezi nimiž převažuje cholesterol. Klíčovou funkcí LDL lipoproteinů je transport cholesterolu k buňkám. Zdravé osoby mají zhruba 60 % celkového cholesterolu uloženo v LDL částicích. Pokud dojde ke zvýšení LDL v krvi, je LDL zodpovědný za usazování cholesterolu v cévním subendotelu a přímo vede k primárním aterosklerotickým procesům.

HDL, lipoproteiny o vysoké hustotě se starají o přemístění přebytečného cholesterolu z periferních tkání do jater. V játrech může být cholesterol přeměněn na žlučové kyseliny a vyloučen z těla. Jednoduše řečeno, HDL lipoproteiny působí antiaterogenním způsobem (Žák, 2011, s. 39-48; Beránek, Tichý a kol., 2013, s. 49-53; Zima, 2013, s. 169-179).

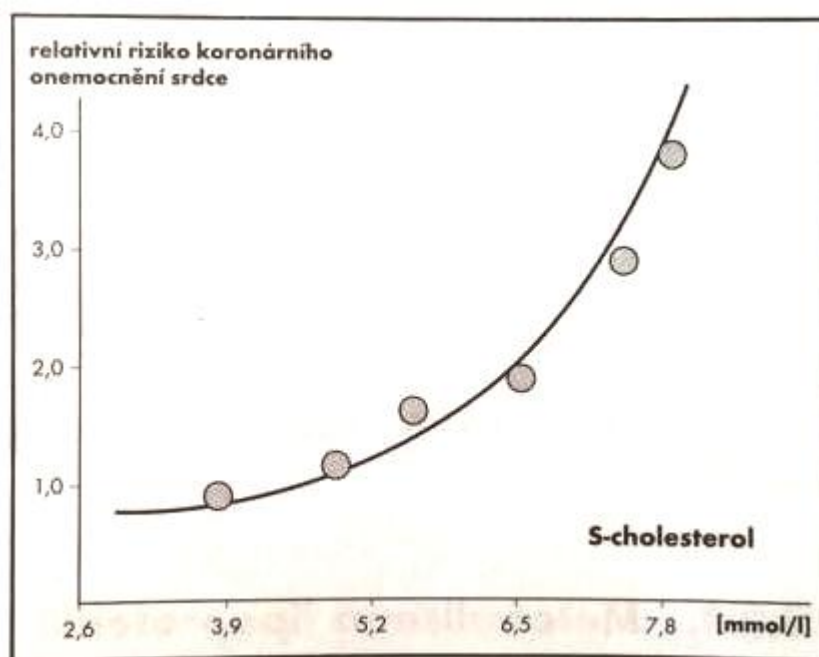
### **2.3.4 Laboratorní biochemické ukazatele rozvoje aterosklerózy**

Součástí laboratorního vyšetření, které je ukazatelem rozvoje aterosklerotických změn, je bezpochyby vyšetření krevních lipidů. Vyšetřuje se celkový cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol, triglyceridy (Češka, 2002, s. 9-11) a popř. další doplňkové parametry, mezi které patří apolipoprotein A1, apolipoprotein B1, lipoprotein (a).

Uváděné hodnoty koncentrací daných krevních lipidů jsou převzaty ze společného doporučení výboru České společnosti klinické biochemie ČLS JEP a české společnosti pro aterosklerózu ČLS JEP ke sjednocení hodnotících mezí krevních lipidů a lipoproteinů pro dospělé populaci. Optimální hodnoty jsou doporučeny k prevenci KVO (Doporučení – Česká společnost klinické biochemie, 2010).

### Celkový cholesterol

Hladina celkového cholesterolu je důležitým ukazatelem rozvoje aterosklerózy, je nejvýznamnějším rizikovým faktorem, který doprovází kardiovaskulární onemocnění. Hladina celkového cholesterolu v séru by se u zdravého muže či ženy středního věku měla pohybovat od 2,9 do 5,0 mmol/l. Riziko rozvoje kardiovaskulárních onemocnění, závislé na sérové koncentraci celkového cholesterolu stoupá exponenciálně se zvyšující se koncentrací celkového cholesterolu. Např. hladina celkového cholesterolu 6,5 mmol/l znamená již dvojnásobné riziko, oproti normální fyziologické hladině 5,0 mmol/l (Racek, 2006, s. 173-180).



Obrázek 3 – Exponenciální nárůst rizika koronárního onemocnění srdce závislý na koncentraci cholesterolu v séru (Racek, 2006, s. 173)

„Více než 60 % pacientů s infarktem myokardu má hladinu cholesterolu zvýšenou nad 6,1 mmol/l. Z toho však vyplývá, že téměř 40 % pacientů se srdečním infarktem má koncentraci cholesterolu v séru normální nebo jen lehce zvýšenou.“ (Racek, 2006, s. 173-180)

Hladina celkového cholesterolu je užitečným ukazatelem kardiovaskulárních změn, má pouze orientační výpovědní charakter. Pro bližší specifikaci problému se orientujeme dle obsahu koncentrace lipoproteinových tříd, ve kterých je cholesterol zastoupen.

Před odběrem biologického materiálu se omezí příjem potravin s vysokým obsahem sacharózy, fruktózy a volných tuků. Odběr proběhne po 12 hodinovém lačnění. Cholesterol se stanovuje ze séra, většinou odebraného do zkumavky s heparinátém lithným. Stabilita vzorku je při 2-8 °C 10 dní. Vyšetření se doporučuje podstupovat v intervalu 5 let, nebo častěji (Doporučení - Česká společnost klinické biochemie, 2010).

### **HDL cholesterol**

HDL cholesterol je cholesterol, který se nachází v krvi v HDL částicích a je těmito lipoproteiny přenašený do jater. Jak již bylo výše zmiňováno, HDL cholesterol má zásadní vliv na aterosklerotický proces v pozitivním smyslu. Jeho zvýšená hladina v krvi způsobí pozitivně, klesá tak riziko rozvoje aterosklerotických změn. Hladina HDL v krvi stoupá při pravidelné pohybové aktivitě, konzumaci malého množství alkoholu, např. vína a také cílené úpravě stravy (Racek, 2006, s. 177).

*„Je prokázáno, že 1% zvýšení HDL-cholesterolu vede k 2 - 3% poklesu rizika ischemické choroby srdeční, a to nezávisle na koncentraci LDL-cholesterolu a triglyceridů.“ (BLW, 2015)*

HDL cholesterol by měl tvořit více jak 20 % z celkového cholesterolu. Optimální hodnota koncentrace HDL cholesterolu v krvi zdravého muže by měla být od 1,0 do 2,1 mmol/l a u žen od 1,2 do 2,7 mmol/l. Hladina HDL cholesterolu je u žen fyziologicky vyšší, jelikož jeho hladinu zvyšují ženské pohlavní hormony, estrogeny. Můžeme tím také odůvodnit fakt, že se většina kardiovaskulárních onemocnění vyskytuje u žen ve vyšším věku, nežli u mužů (Sedláček 2006, s. 61-62).

Odběr biologického materiálu probíhá po 12 hodinovém lačnění. HDL cholesterol stanovujeme ze séra, většinou odebraného do zkumavky s heparinátém lithným. Stabilita vzorku je při 2-8 °C 9 dní. Vyšetření se doporučuje podstupovat v intervalu 5 let, nebo častěji (Doporučení - Česká společnost klinické biochemie, 2010).

## **LDL cholesterol**

LDL cholesterol je cholesterol, který je obsažen v LDL částicích a je těmito částicemi transportován z jater do tkání. Zvýšená hladina LDL v krvi je jasným ukazatelem aterosklerotických změn. Částice LDL pronikají skrz endotelové buňky do vrstvy tunica intima a dochází k usazování cholesterolu v cévách. Pokud je vrstva endotelu poškozena, např. u kuřáků, je tím proces ukládání lipidových částic podpořen (Racek, 2006, s. 176).

Hladina LDL cholesterolu v krvi by se u mužů i žen měla optimálně pohybovat v koncentraci od 1,2 do 3,0 mmol/l. Pokud budeme hovořit o osobách se zvýšeným rizikem kardiovaskulárních onemocnění, měla by se koncentrace LDL cholesterolu pohybovat do 2,5 mmol/l, avšak osobám se závažným rizikem a kardiovaskulárním onemocněním se doporučuje hodnota ještě nižší, a to do 1,8 mmol/l (Sedláček 2006, s. 61-62).

Odběr biologického materiálu probíhá po 12 hodinovém lačnění. LDL cholesterol stanovujeme ze séra. Stabilita vzorku je při 2-8 °C 10 dní. Vyšetření se doporučuje podstupovat v intervalu 5 let, nebo častěji (Doporučení - Česká společnost klinické biochemie, 2010).

## **Triglyceridy, triacylglyceroly**

Triglyceridy se ukládají v tukové tkáni, nebo také kolují v plazmě. Jsou složeny z esteru glycerolu a mastných kyselin. V těle vytváří zásobní zdroj energie, především pro svalovou činnost, který je velice rychle odstraňován z plazmy. Zvýšená koncentrace TAG v plazmě se objevuje po konzumaci potravy a je během 12 hodin zcela odbourána (Češka 2012, s. 50).

Zvýšená koncentrace TAG odráží zvýšenou koncentraci lipoproteinových částic, které mají proaterogenní účinky (VLDL, IDL, zbytky chylomikronů), ale běžně se nestanovují (Soška, 2001, s. 13-38).

Koncentrace triglyceridů v plazmě by měla být od 0,45 do 1,7 mmol/l. Triglyceridy stanovujeme pro posouzení metabolismu tuků. Odběr biologického materiálu probíhá po 12 hodinovém lačnění. Triglyceridy stanovujeme ze séra, většinou odebraného do zkumavky s heparinátlem lithným. Stabilita vzorku je při 2-8 °C 9 dní. Vyšetření se doporučuje podstupovat v intervalu 5 let, nebo častěji (Sedláček 2006, s. 61-62; Doporučení - Česká společnost klinické biochemie, 2010).



## 2.4 Ateroskleróza

Z řeckého athare – kaše, skleros – tvrdý (Mačák, Mačáková a Dvořáčková, 2012, s. 169).

Ateroskleróza je definována, jako „variabilní kombinace změn intimy arterií spojené s ukládáním lipidů, polysacharidů a krevních elementů a v dalším vývoji tvorbou fibrózní tkáně provázené ukládáním vápenatých sloučenin, se změnami v médii arterií. Je to pomalu progradující onemocnění začínající již v mládí“ (Falk, 2006)

Ateroskleróza je tedy chronické progresivní onemocnění cévní stěny arterií svalového a elastického typu. Patologický proces se rozvíjí konkrétně v cévní vrstvě tunica intima, která se vyznačuje postupným lokálním zachycováním a hromaděním komponent, jakými jsou obzvláště lipoidní látky, krevní komponenty a fibrózní tkáň vrstvy tunica intima.

Základním morfologickým projevem celého procesu je lokální fibrózní nekróza, tedy místní chronický zánět cévní vrstvy tunica intima. Ateroskleróza vzniká jako zánětlivá odpověď nejvnitřnějších vrstvy stěny arterií.

Následkem aterosklerotického procesu bývá ztráta pružnosti artérie, zužování průsvitu artérie a narůstání materiálu stěny artérie. Rozvoj aterosklerotických procesů bývá často jedním z hlavních rizikových faktorů pro následný vznik dalších zdravotních komplikací, jakou je nejčastěji ischemie, která vede k rozvoji dalších chorob, např. infarktu myokardu, mozkové mrtvice, dalším koronárním onemocněním, angině pectoris aj. (Falk, 2006; Fernández-Avilés, 2005, s. 1-5).

### 2.4.1 Patogeneze aterosklerotických projevů

Celý aterosklerotický proces je velice pozvolný, postupný a dlouhodobý děj, který se začíná vyvíjet již v mládí v období 20 let. Je ovlivněn dalšími faktory, které mohou proces aterosklerózy podpořit, ale také zpomalit a odvrátit fatální následky konečných stádií. Rizikové faktory budou rozebírány v dalších kapitolách. (Mačák, Mačáková a Dvořáčková, 2012, s. 169-170).

Na patogenetickém procesu aterosklerózy se podílí celý souhrn po sobě jdoucích procesů, které se odehrávají jako reakce na předchozí poškození nejvnitřnější endotelové vrstvy arterií. Poškození endotelu arterií má za následek navazující proces chronického zánětu, který vzniká v místě prvotního poškození endotelu. Endotel

přestává plnit některé fyziologicky dané funkce, začíná vytvářet cytokiny, adhezní molekuly a další růstové faktory. Těmito složkami aktivovaný endotel přitahuje do místa původní léze monocyty, které se zde přemění na makrofágy. Dále v místě léze zaznamenáváme zvýšený počet T-lymfocytů, vyselektovaných z krevního řečiště. Subendotelový prostor se naplňuje těmito intervenčními buňkami. Zvětšuje se nejen subendotel, ale i celková permeabilita endotelu, který tím poskytuje větší šanci pro zachycení a pronikání lipoproteinových částic také do subendotelového prostoru. V subendotelovém prostoru dochází k procesu, kdy jsou lipoproteinové částice společně s kyslíkovými a dusíkatými radikály přeměněny, dojde tedy k lipoperoxidaci. Při tomto pochodu se uvolňuje oxidovaný cholesterol, který je při pohlcení makrofágy přeměněn na pěnové buňky naplněné lipidy. Pěnové buňky přeplněné tukem postupným tlakem praskají a cholesterol v nich obsažený se dostává do extracelulárního prostoru cév. Stěna nezvětšuje svůj objem pouze lipidovou složkou, postupně totiž také dochází k proliferaci a migraci hladkých svalových buněk z tuniky média a fibroidních buněk a následnému ukládání kalcia. Cévní stěna se stále zesiluje, zužuje se lumen cévy a dochází k trombogenní afinitě cévy a vyšší pravděpodobnosti následného poškození cévy (Bártlová, 2015, s. 85).

Endotelové vrstvě je tedy připisována zásadní role v rozvoji aterosklerotických změn. Prvotním stádiem aterosklerózy je bez pochyby počátek endoteliálních dysfunkcí.

Celý výše popsany patogenetický proces popisuje problém postupného ztlušťování endotelové vrstvy a tak i celkově vrstvy tunici intimy. Tunica intima se ztlušťuje nejen v důsledku aterosklerotických změn, ale také zcela fyziologicky s narůstajícím věkem. Jak bylo výše zmiňováno, subendotelové vazivo a endotelové buňky tvoří u dětí jen velmi slabou vrstvu a až postupem věku dochází k ukládání a tvorbě mezibuněčné hmoty a dalších elementů.

Ztloustlá tunica intima působí značně aterogenně. Buňky, které jsou uloženy v hlubších vrstvách intimy nebo ve vnitřních vrstvách média jsou hůře vyživovány. U buněk hladké svaloviny z tohoto důvodu klesá aktivita enzymů Krebsova cyklu a naopak narůstá aktivita lyzozomálních enzymů. Klesají oxidační procesy v buňkách, snižuje se produkce makroergních molekul fosfátů. Makroergní fosfáty mají zásadní vliv pro udržení správného napětí buněk. Celý tento nepříznivý děj snižuje napětí buněk, který má další následek, a to hromadění tkáňového moku v intimě. Tkáňový mok postupně precipituje koloidní látky, převážně lipidy. Pokud k tomu všemu má

člověk dispozici např. hyperlipidémii, ukládá se do cévní stěny mnohem více lipidů a dochází tak k jejich akumulaci. Z lipidů zmiňme jen např. cholesterol, který má velice aterogenní efekt, povzbuzuje vazivo k intenzivní proliferaci a ztlušťování intimy. Nyní je zřejmé, jak se celý z počátku fyziologický děj cyklicky uzavírá a nepříznivě přechází v aterosklerotický proces a tvorbu ateromových plátů (Češka, 2012, s. 25-45; Bednář, 1982, s. 268-274).

## **2.4.2 Patologicko – anatomické rozdělení základních forem aterosklerózy, podle časového vývoje změn**

### **Izolované pěnové buňky**

Endotel vykazuje dysfunkční změny. Tunika intima je celkově silnější, přibývá množství hladkých svalových buněk, vaziva, infiltrují se do této vrstvy lipoproteiny. V intimě zaznamenáváme i větší množství makrofágů, které ve svém obsahu pojmají kapénky lipidů. Tato fáze lézí byla objevena u dětí již v 1. roce jejich života.

### **Tukové proužky**

Tukové proužky patří k nejčastějším fázím aterosklerotického procesu, které s největší pravděpodobností zaznamenáváme u všech osob. Běžně se vyskytují i v dětském věku, s věkem postupně přibývají. Nacházíme je obzvláště ve velkých arteriích v jejich intimě. Jsou to makroskopicky viditelná ložiska žlutavé barvy, velikosti zhruba pár mm, do několika cm. Nijak neomezují průtok cévy, nezasahují do lumina cévy. Hlavním stavebním prvkem v tukových proužcích jsou pěnové buňky naplněné intracelulárně akumulovanými lipidy. Nacházíme zde i elementy, jako jsou makrofágy nebo T-lymfocyty. Pěnové buňky mohou vzniknout z makrofágů, které jsou chemotakticky přitahovány do nitra cévní stěny a akumulují zde lipidy, nebo mohou vznikat z buněk hladké svaloviny, které migrují z vrstvy tunica média do vrstvy tunica intima a opět zde hromadí lipidové částice, tedy estery cholesterolu. Pěnové buňky vykazují vysokou metabolickou aktivitu, podílejí se na katabolismu lipidů aktivitou některých dehydrogenáz. Díky této aktivitě řada tukových proužků po čase vymizí. Toto stádium není v aterosklerotickém procesu stabilní a definitivní. Může být pomyslným prvotním krokem k dalšímu vývoji vážnějších fází aterosklerotického procesu, avšak řada tukových proužků je po čase enzymaticky rozložena.

### **Intermediální léze**

Tato fáze znamená volný přechod mezi závažnějšími lézemi. Dochází k nahromadění velkého množství pěnových buněk a makrofágů, které jsou co možná nejvíce naplněné lipidy. Lipidové kapénky se prasknutím přeplněných buněk dostávají do extracelulárního prostoru. K procesu tvorby intermediálních lézí dochází průběžně od třetí dekády života.

### **Ateromy, fibrózní pláty**

Fibrózní pláty neboli ateromy, jsou dalším stádiem aterosklerotického procesu. Je zřejmé nahromadění extracelulárních lipidů, vytvářejících zřetelně ohraničená, různě velká ložiska ve stěně cév. Ateromy mají tužší až chrupavčitou strukturu kolagenní podstaty, šedavě-žlutého nádechu. Není výjimkou, že hlubší vrstvy ateromového plátu podléhají nekróze. Ateromy jsou složeny z krystalů cholesterolu, ukládajícího se kalcia, značného množství proliferujících buněk hladké svaloviny, makrofágů a z nich přetvořených pěnových buněk. Lipidové části (cholesterol a jeho estery, tj. kyselina linolová a sfingomyelin) jsou uloženy extracelulárně. Metabolická aktivita fibrózních plátů je výrazně nižší, než u tukových proužků. Fibrózní pláty přímo zasahují do lumina cév, začínají omezovat průtok krve a zužovat průsvit cévy.

Z histologického hlediska zaznamenáváme výrazné fibrózní nabývání intimy. Lamina elastica interna má rozvlákněnou strukturu.

Tato fáze a fáze následující jsou charakteristické svým nástupem okolo 50. roku života.

### **Fibroaterom**

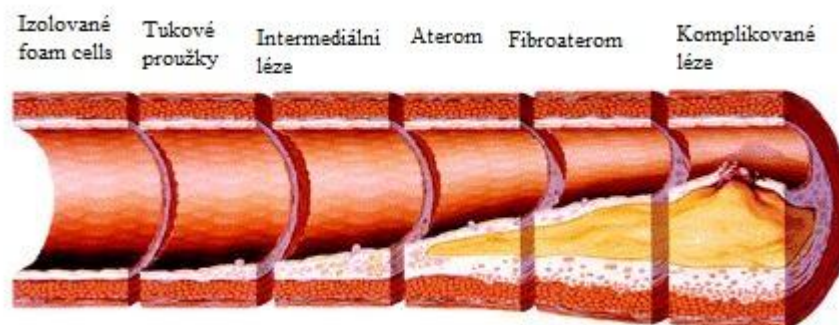
Aterom se zvětšuje, a to hlavně kvůli nárůstu buněčných elementů v jeho základu, množí se hladké svalové buňky, vazivová složka, lipidová složka, kolagen. Již plně vystupuje nad cévní stěnu a nebezpečně omezuje a zužuje lumen cévy. Jeho struktura je velice měkká, žlutavé barvy. Tunica intima je velice nápadně ztloustlá a na jejím průřezu jsou znatelné různě objemné dutinky vyplněné mastnou kašovitou hmotou. Z histologického hlediska se jedná o nekrotická ložiska lipidově infiltrované tunici intimy.

Fibroaterom se může postupně rozpadat, jeho ateromové části se obnaží a dostávají se do kontaktu s lumenem artérie. Krevním proudem jsou uneseny a v místě poškození

vzniká ateromový vřed. V pozdějších rozvinutých stádiích aterosklerózy může být celá stěna artérie zdrsňena v důsledku mnoha ateromových vředů.

### **Komplikované léze**

Komplikované léze se vytvářejí silnou kalcifikací fibrózních plátů a také dalšími degenerativními procesy, které vedou k zachycování trombocytů na povrchu fibroateromu a k jeho následnému růstu. Může dojít až k vzniku trombu a trombotickému stavu, kdy se náhle celá céva uzavře, nebo k ruptuře fibroateromu, tvorbě hematomu se značným krvácením. Ruptura a krvácení končí také trombózou, která částečně či totálně uzavře lumen. Důsledkem pak může být těžké poškození důležitých orgánů z důvodu nepřístupnosti krevního zásobení, jako je např. infarkt myokardu či ictus cerebri (Bednář, 1982, s. 268-274).



Obrázek 4 - Patologicko-anatomické rozdělení aterosklerotických změn ([www.atvb.ahajournals.org](http://www.atvb.ahajournals.org))

### **2.4.3 Nejčastější místa vzniku aterosklerotických změn**

Ateroskleróza se týká hlavně velkých a středních arterií, tedy arterií elastického typu a arterií svalového typu, kde způsobuje velice závažné omezení průtoku cév. Nejspecifičtější se léze nachází na srdečních koronárních tepnách, hrudní aortě, arterii poplitea, karotické arterii a arteriích Willisova okruhu, extrakraniálních arteriích, které zásobují mozek. Z koronárních arterií jsou nejčastěji postižené zpravidla pravá a levá koronární tepna a jejich větve (Jerie, 1967).

#### **2.4.4 Stabilní a nestabilní plát**

Složení ateromového plátu má zásadní vliv na následné změny a další vývoj onemocnění. Jeho složení ovlivňuje stabilitu plátu a jeho sklony k akutním cévním příhodám.

Stabilní plát je složen především z hladkých svalových buněk, kolagenu a pouze z malé části lipidovou složkou. Nemá sklony k ruptuře, která je obvykle následována trombózou. Proto je tento typ plátu stálý, často po řadu let neměnný. Naopak nestabilní plát je vydatně naplněn lipidovým polotekutým středem, složeným z velké části z esterů cholesterolu, ze zánětlivých buněk, tj. pěnových buněk a T-lymfocytů. Často dochází k místním rupturám, které zapříčiňují trombotické stavy, vedoucí k akutní cévní příhodě. Stabilní a nestabilní pláty v sebe mohou volně přecházet, často v závislosti na aktuálních procesech, které v místě probíhají, např. hyperlipidémie, hypolipidémie.

Cílem hypolipidemické léčby u pacientů s aterosklerotickými problémy je především dosáhnout přechodu z nestabilního plátu na plát stabilní. K této změně při správné léčbě a jejím dodržování dochází podstatně brzy, již po několika týdnech (Češka, 2012, s. 25-45).

#### **2.4.5 Arteriální okluze, trombóza**

Na konečném stádiu uzavření cévy, nebo na jejím zúžení se při aterosklerotických procesech může podílet pouze ateroskleróza, nebo může být tento proces následován trombózou, která má za následek rychlejší tendenci k uzavření cévy. Trombóza je charakteristická převážně pro nestabilní ateromový plát, zodpovědná za akutní procesy s rychlým nástupem bez možnosti aktuálních kompenzačních prostředků. Stabilní plát, také často řečeno stabilní ateroskleróza, sice zužuje lumen cévy, ale v pozvolném procesu, takže si tělo postupně vytváří kompenzační mechanismy, jako např. hypertenzi, dyspnoe, atd. (Bednář, 1982, s. 268-274).

#### **2.4.6 Onemocnění způsobená v důsledku aterosklerotických změn**

K nejčastějším kardiovaskulárním onemocněním patří bez pochyby ateroskleróza. Je doprovázena navazujícími komplikacemi, jako je ischemická choroba srdeční. Vyvrcholením ischemické choroby srdeční je infarkt myokardu, cévní mozková příhoda, ucpávání tepen dolních končetin, aneurysma hrudní či abdominální aorty a ischemie ledvin (Piřha a Roztočil (ed.), 2014, s. 41-45).

### 3 Cíl práce

Cílem teoretické části práce je shrnutí aktuálního civilizačního onemocnění – aterosklerózy. Popisovaná teoretická východiska budou zpracována z histologického pohledu, jelikož samotný aterosklerotický proces probíhá na nejnižší úrovni buněk a tkání.

Cílem praktické části práce je zhotovení preparátů pomocí histologických technik, popis a průkaz postupných aterosklerotických změn artérií. Dodané preparáty artérií budou histologicky zpracovány a obarveny základní barvicí metodou hematoxylin - eosin. Následné mikroskopické pozorování umožní prokázat a zhodnotit míru poškození artérií. Budeme pozorovat preparáty artérie, aorty a koronární artérie s postupnými aterosklerotickými změnami.

Histologický průkaz aterosklerotických změn artérií by měl sloužit především jako osvěta závažného zdravotního problému celosvětové populace, aterosklerózy.

## 4 Metodika práce

Zpracování a pozorování histologických preparátů bylo provedeno na Ústavu histologie a embryologie 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy pod vedením MUDr. Richarda Beckeho a laborantky Elišky Boučkové. Tkáň pro zhotovení histologických preparátů byla odebrána a dodána z Ústavu patologie 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze.

Zhotovení histologického preparátu je složeno z několika stěžejních kroků, které po sobě následují. Po odebrání vzorku provádíme jeho fixaci, poté zalévání, krájení, barvení a montování. Po přípravě vzorku můžeme histologický preparát mikroskopicky pozorovat.

Metodika histologické přípravy materiálu podléhá standardním operačním postupům. Pro průkaz aterosklerotických změn artérií byla dodána nekroptická biologická tkáň.

### 4.1 Fixace

Fixace biologického materiálu je založena na principu jemné a šetrné denaturace bílkovin. Zabraňuje rozkladu biologického materiálu, který po odběru probíhá. Proces rozkladu vlastními enzymy se nazývá autolýza, popř. může probíhat samovolný rozklad tkáně bakteriemi, hniloba. Fixace je z těchto důvodů provedena ihned po odběru materiálu. Prostředkem chemické fixace je formol. Formol je roztok 40% formaldehydu rozpuštěný v H<sub>2</sub>O. Pro fixaci použijeme pouze 10% formol, tedy 4% formaldehyd. Fixace probíhá 48 hodin.

### 4.2 Zalévání

Po vyjmutí biologického materiálu z fixační lázně následuje krok zalévání. Materiál zaléváme do parafínu. Zalití materiálu nám umožní vyplnění všech mikroskopických dutinek tkáně parafínem a nakrájení tenkých řezů o požadované tloušťce několika mikrometrů (5-10 μm).

Parafín je médium nemísitelné s vodou. Pro dokonalé prostoupení parafínu biologickým materiálem musíme provést odvodňovací a prosycovací lázeň. Dosáhneme kompaktního zalití materiálu.



Odvodňujeme vzestupnou alkoholovou řadou. Nahradíme tak vodu v materiálu odvodňovacím médiem. Alkoholová vzestupná řada obsahuje několik lázní alkoholu, v našem případě etanolu, a to 2 lázně 50% alkoholu, 70% lázní alkoholu, 2 lázně 80% alkoholu, 2 lázně 90% alkoholu, 2 lázně 96% alkoholu a další 3 lázně 100% alkoholu. Kdybychom ponořili tkáň ihned do 100% alkoholu, deformovala by se a smrštila. Ve 100% alkoholu nesmíme nechat tkáň déle než 1 hodinu, jelikož by tkáň kompletně ztvrdla.

Poté materiál prosycujeme acetonem a benzenem. Nejprve použijeme aceton, který usnadní prosycení s benzenem. Benzen je intermedium, které se mísí jak s alkoholem (látkou rozpustnou ve vodě), tak také zároveň s parafínem (látkou nerozpustnou ve vodě). Benzen zároveň projasní tkáň. Prosycujeme celkem ve dvou hodinových acetonových lázních a ve třech benzenových lázních v časovém intervalu 10 minut.

Intermedium následně umožní dokonale prosytit tkáň parafínem. Parafín je rozpuštěný na teplotu 56-58 °C, provádíme celkem 3 prosycovací lázně do úplného odstranění benzenu z tkáně. V první lázni necháme tkáň 20 hodin, ve druhé lázni 24 hodin a ve třetí lázni 6 hodin.

Konečným krokem je samotné zalití takto připraveného materiálu. Zalití provádíme v předem připravené papírové komůrce, do které nalijeme rozehřátý zkvalitněný parafín, opět na teplotu 56-58 °C. Pinzetou přeneseme prosycenou tkáň, do papírové komůrky. Jehlou upravíme umístění a orientaci tkáně v parafínu. Na hladinu parafínu několikrát foukneme, aby byla kompaktnější. Když hladinka ztuhne, ochlazujeme celý bloček ve studené vodě. Po zatuhnutí okrajíme přebytečné boky bločku od parafínu a papírové komůrky, vznikne tak čtvercový bloček. Bloček na spodní straně nahřejeme nožem a přilepíme k němu dřevěný špalíček. Špalíček se označuje číslem a identifikuje preparát.

Výsledkem zalití je parafínový bloček, který nám poslouží v dalších krocích ke krájení řezů.

**Tabulka 1 – Přehled kroků spojených se zaléváním tkáně**

Médium, lázeň	Čas lázně	Den a čas provedení
Odvodnění		
50% etanol I	2 hod 10 min	Pá: 8:40 – 10:50
50% etanol II	1 hod 15 min	Pá: 10:50 – 12:05
70% etanol	20 hod 15 min	Pá: 12:05 – Po: 8:50
80% etanol I	40 min	Po: 8:50 – 9:30
80% etanol II	5 hod 10 min	Po: 9:30 – 14:40
90% etanol I	50 min	Po: 14:40 – 15:30
90% etanol II	17 hod 15 min	Po: 15:30 – Út: 8:45
96% etanol I	6 hodin 55 min	Út: 8:45 – 15:40
96% etanol II	16 hod 20 min	Út: 15:40 – St: 8:00
100% etanol I	1 hodina	St: 8:00 – 9:00
100% etanol II	1 hodina	St: 9:00 – 10:00
100% etanol III	1 hodina	St: 10:00 – 11:00
Prosycení a projasnění acetonem a benzenem		
aceton I	1 hodina	St: 11:00 – 12:00
aceton II	1 hodina	St: 12:00 – 13:00
benzen I	10 min	St: 13:00 – 13:10
benzen II	10 min	St: 13:10 – 13:20
benzen III	10 min	St: 13:20 – 13:30
Prosycení parafínem		
parafín I	20 hod	St: 13:30 – Čt: 9:30
parafín II	24 hod	Čt: 9:30 – Pá: 9:30
parafín III	6 hod	Pá: 9:30 – Pá: 15:30
Vlastní zalití		
zaléváno do zkvalitněného parafínu		-

### 4.3 Krájení řezů

Ke krájení histologického preparátu na velmi tenké řezy používáme mikrotom, v našem případě rotační mikrotom. Tento stroj nám umožní skrojit řez o tloušťce přibližně 8  $\mu\text{m}$ . Skrojený řez přilepíme na odmaštěné podložní sklíčko. Aby došlo k perfektnímu dosednutí řezu na sklíčko, nanese na něj adhezivní vrstvu směsi glycerínu a vaječného bílku.

Takto přenesený řez může být částečně shrnutý a nerovný. Snažíme se o vyrovnání řezu a o jeho napnutí. K napínání postačí kápnout pod řez kapičku destilované vody. Na vodní hladince se nerovnosti vypnou. Pro perfektní napnutí umístíme sklíčko s řezem na vyhřívanou ploténku. Výsledkem je napnutý

řez požadovaného histologického preparátu umístěný na podložním skle. Pro dokonalé vyschnutí umístíme preparát do termostatu s teplotou 37°C na 24 hodin.

#### 4.4 Barvení hematoxylin - eosinem

Před samotným barvením je nutné zbavit preparát parafínu. Deparafinace probíhá v několika lázních xylenu a alkoholu. Nejprve ve dvou 5 minutových lázních xylenu, poté v sestupné řadě alkoholu (etanolu), první 5 minutová lázeň 100% ehanolu, poté druhá 5 minutová lázeň 96% etanolu. Deparafinace je zakončena 5 minutovým praním preparátů pod tekoucí vodou a následným oplachem v destilované vodě.

Tabulka 2 – Přehled kroků deparafinace

Deparafinace	
Médium	Čas
xylén I.	5 min
xylén II.	5 min
100% etanol	5 min
96% etanol	5 min
praní ve vodě	5 min
oplach v destilované vodě	pouze namočit

Pro průkaz aterosklerotických změn jsme aplikovali základní barvení hematoxylin – eosinem. Kombinace dvou barviv, bazického hematoxylinu a acidického eosinu barví buněčné elementy dle jejich bazofilní, acidofilní či neutrofilní povahy. Po barvení jsou jádra buněk modré, cytoplazma a vazivo růžové, svalstvo a erytrocyty červené barvy.

Hematoxylin je nažloutlý krystalický prášek rozpustný ve vodě a alkoholu. Roztok hematoxylinu barví až poté, co je oxidován na hematein. Oxidaci zprostředkuje oxidační činidlo. Oxidovaný roztok ještě nebarví tkáň dostatečně. Přidáním mořidla (kamence) vzniká barevný lak, který je již schopný dostatečně obarvit preparát.

V našem případě byl preparát obarven komerčně dodávaným Harrisovým hematoxylinem. Před jeho použitím je nutné roztok důkladně přefiltrovat.

Eosin vytváří spolu s hematoxylinem správný barevný kontrast. Je schopný obarvit cytoplazmu buněk či mezibuněčnou hmotu v odstínech červeno – růžové.

Pro přesné provedení barvení je uvedena tabulka, která popisuje barvicí kroky. Striktní dodržení pořadí těchto kroků následně za sebou a časů lázní je podmínkou ke správnému obarvení preparátu. Všechny použité roztoky by měly být čerstvě připravené.

**Tabulka 3 – Přehled barvicí metody hematoxylin – eosin**

Pořadí kroků	Činidlo	Čas lázně, specifikace
<b>Barvení</b>		
1.	Harrisův hematoxylin	5 min
2.	praní ve vodě	pouze namočit
3.	diferenciace kyselým alkoholem*	pouze namočit
4.	praní ve vodě	10 min
5.	2% roztok NaHCO <sub>3</sub>	pouze namočit
6.	praní ve vodě	pouze namočit
7.	0,5% roztok eosinu	5 min
8.	oplach v destilované vodě	postupně ve 3 kyvetách
9.	osušení	-
<b>Odvodnění</b>		
1.	96% ethanol	rychlé přendání
2.	100% ethanol	rychlé přendání
<b>Projasnění</b>		
1.	karbol-xylén**	5 min
2.	xylén	5 min
3.	xylén	5 min

\* kyselý alkohol je připraven ze 5 kapek HCl v 100 ml 96% ethanolu,

\*\* karbol-xylén je připraven z 3 dílů xylenu a 1 dílu fenolu

Konečné odvodnění provádíme z důvodů nemísitelnosti montovacích médií s vodou. Díky karbolxylenové a xylenovým projasňovacím lázním získá preparát index lomu velice podobný indexu lomu skla.



Obrázek 5 – Kyvety s médii pro provedení kroků deparafinace a barvení H-E

## 4.5 Montování řezů

Montováním řezů se rozumí přilepení krycího sklíčka ke sklu podložnímu na obarvený řez preparátu pomocí montovacího média. Montovací médium by mělo být ideálně průhledné, velice pevné a se stejným indexem lomu, jaký má sklo (index lomu skla je přibližně 1,5). V našem případě jsme jako montovací médium použili ve vodě nerozpustné médium – DePex.

Krycí sklíčko musí být absolutně přilnuté, pomocí pinzety vytlačíme přebytečné vzduchové bublinky, které se pod krycím sklíčkem nacházejí.

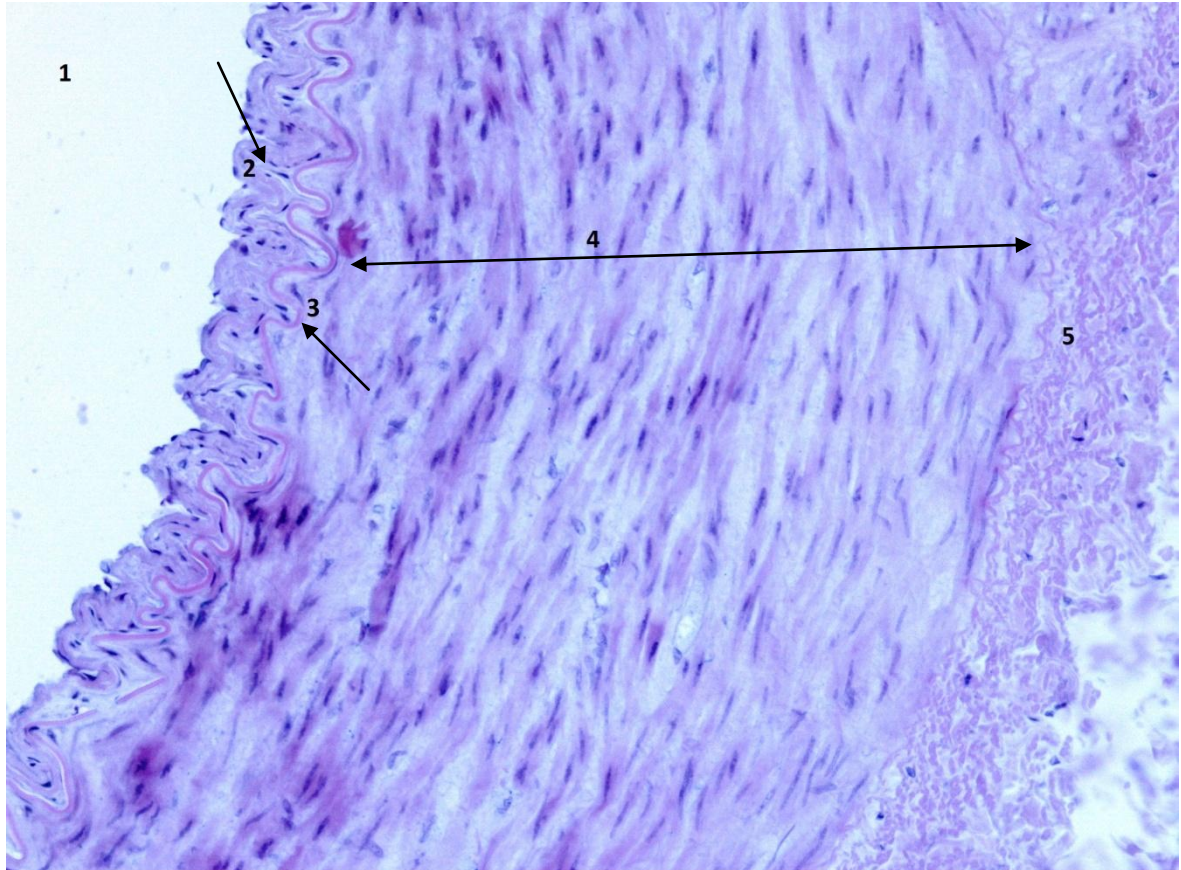
Takto zhotovený preparát necháme schnout v termostatu. Preparát je připraven k mikroskopickému pozorování a popisu.

## 4.6 Mikroskopické pozorování

Zhotovené preparáty pozorujeme pomocí mikroskopu Leica DMLB. Mikroskop obsahuje zabudovanou kameru Leica DC 300. Kamera zaznamenává obraz a fotí jej do počítačového programu. Počítačový software Leica IM 500 Image Manager umožňuje převést snímky do počítače. Pracujeme se zvětšením 10x, 20x a 40x.

## 5 Výsledky

### 5.1 Artérie bez aterosklerotických změn



Obrázek 6 – Preparát artérie bez aterosklerotických změn, zvětšeno 20x

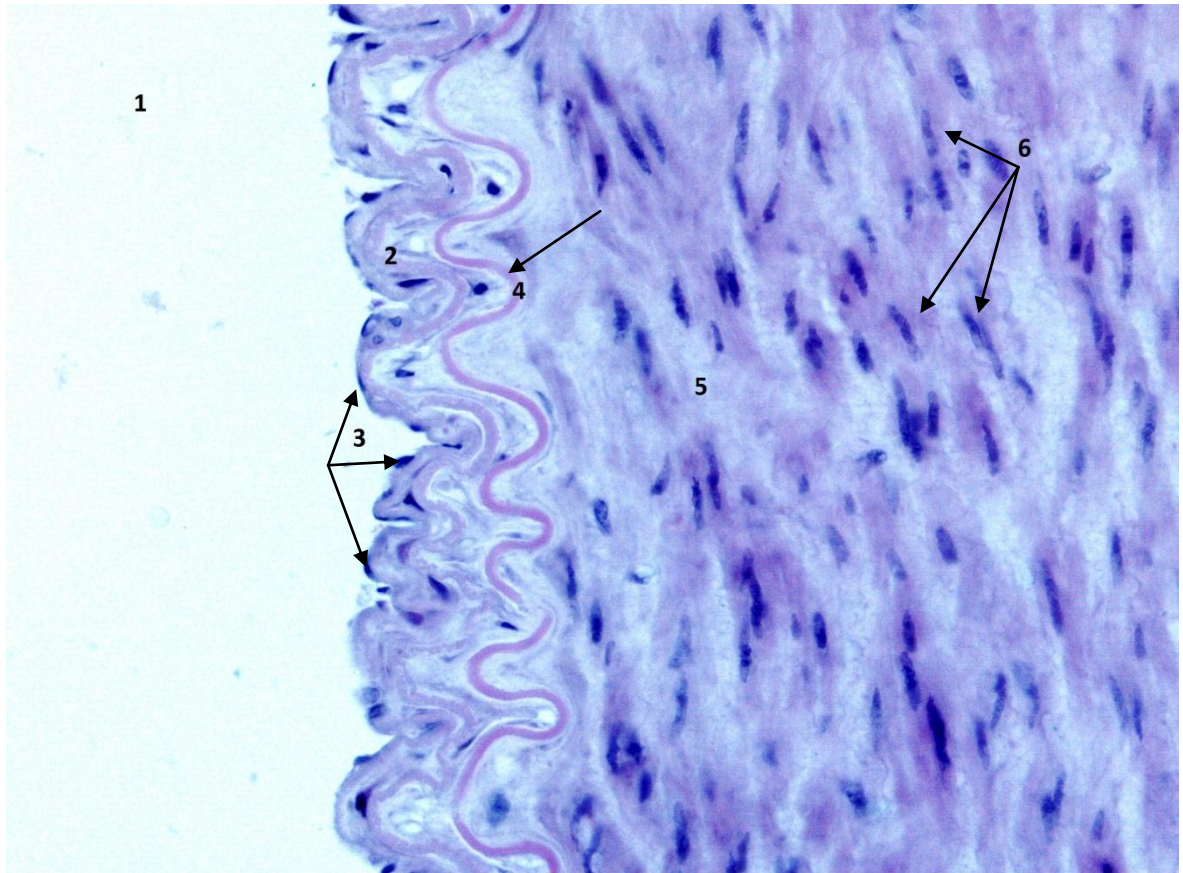
1 – Lumen artérie.

2 – Tunica intima, na které nejsou zřejmé patologické změny aterosklerotického procesu, konstantně lemuje fyziologický tvar artérie. Můžeme vidět silně modře zbarvená jádra endotelových buněk.

3 – Membrana elastica interna jasně odděluje vrstvu tunica intima od vrstvy tunica media.

4 – Mohutná vrstva tunica media obsahuje zřetelně viditelné, koncentricky uspořádané buňky hladké svaloviny. Jádra svalových buněk jsou opět jasně modrá.

5 – Tunica adventitia tvořena řídkým kolagenním vazivem s jasně viditelnými jádry fibroblastů.



Obrázek 7 - Preparát artérie bez aterosklerotických změn, zvětšeno 40x

1 – Lumen artérie.

2 – Tunica intima, která nevykazuje žádné aterosklerotické změny. Její vrstva je velmi slabá, netvoří nadbytečné množství mezibuněčné atrofické hmoty.

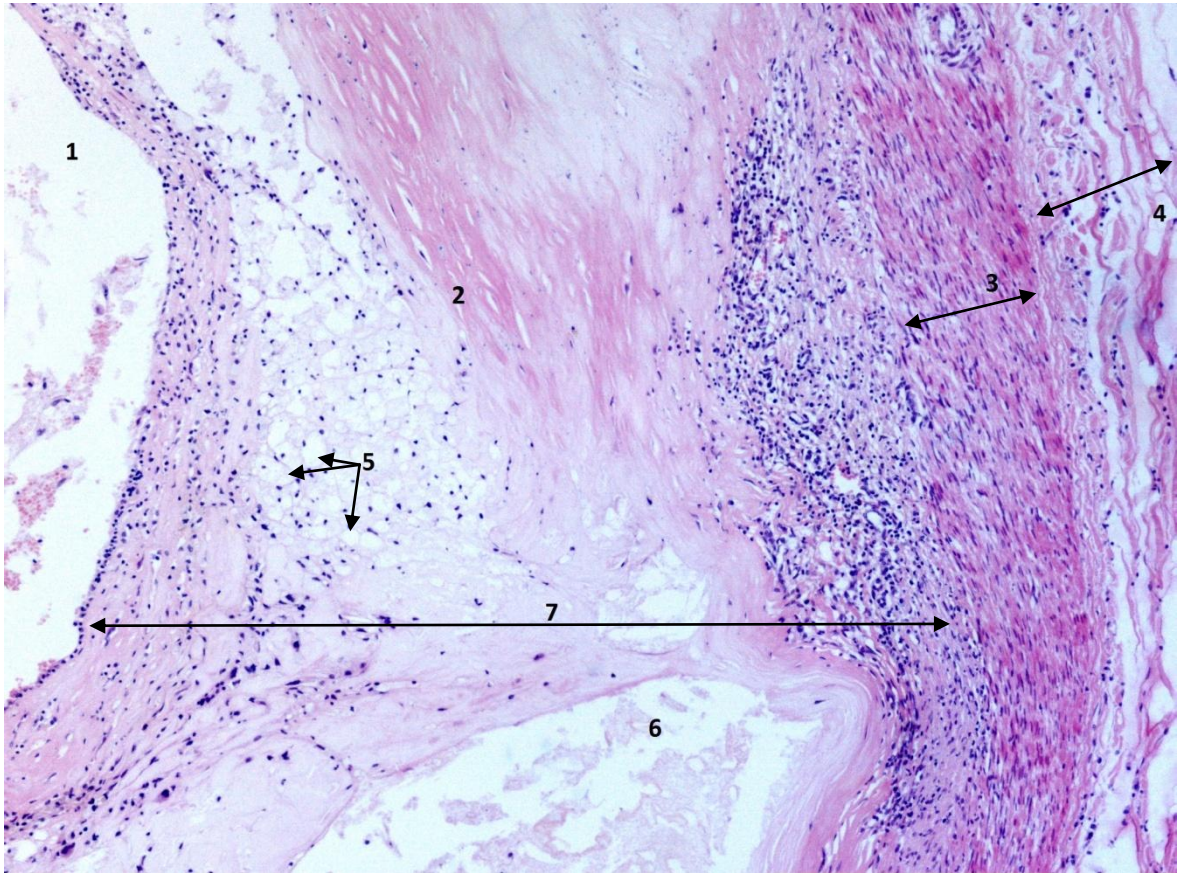
3 – Jádra endotelových buněk mající lehce protáhlý tvar, endotelové buňky kopírují povrch artérie.

4 – Membrana elastica interna je typická pro artérie, na jiných cévních úrovních není tak ostrá, nebo se nenachází vůbec.

5 – Tunica media.

6 – Buňky hladké svaloviny koncentricky uspořádané se zřetelnými tmavě modře obarvenými protáhlými jádry.

## 5.2 Artérie s aterosklerotickými změnami



Obrázek 8 – Artérie s aterosklerotickými změnami, zvětšeno 10x

1 – Lumen artérie se zbytky krevních elementů.

2 – Hladká svalovina vrstvy tunica intima. Hojně přibývající buňky hladké svaloviny způsobí zesílení vrstvy tunica intima.

3 – Tunica media je v poměru se zesílenou vrstvou tunica intima slabá, obsahuje hladké svalové buňky.

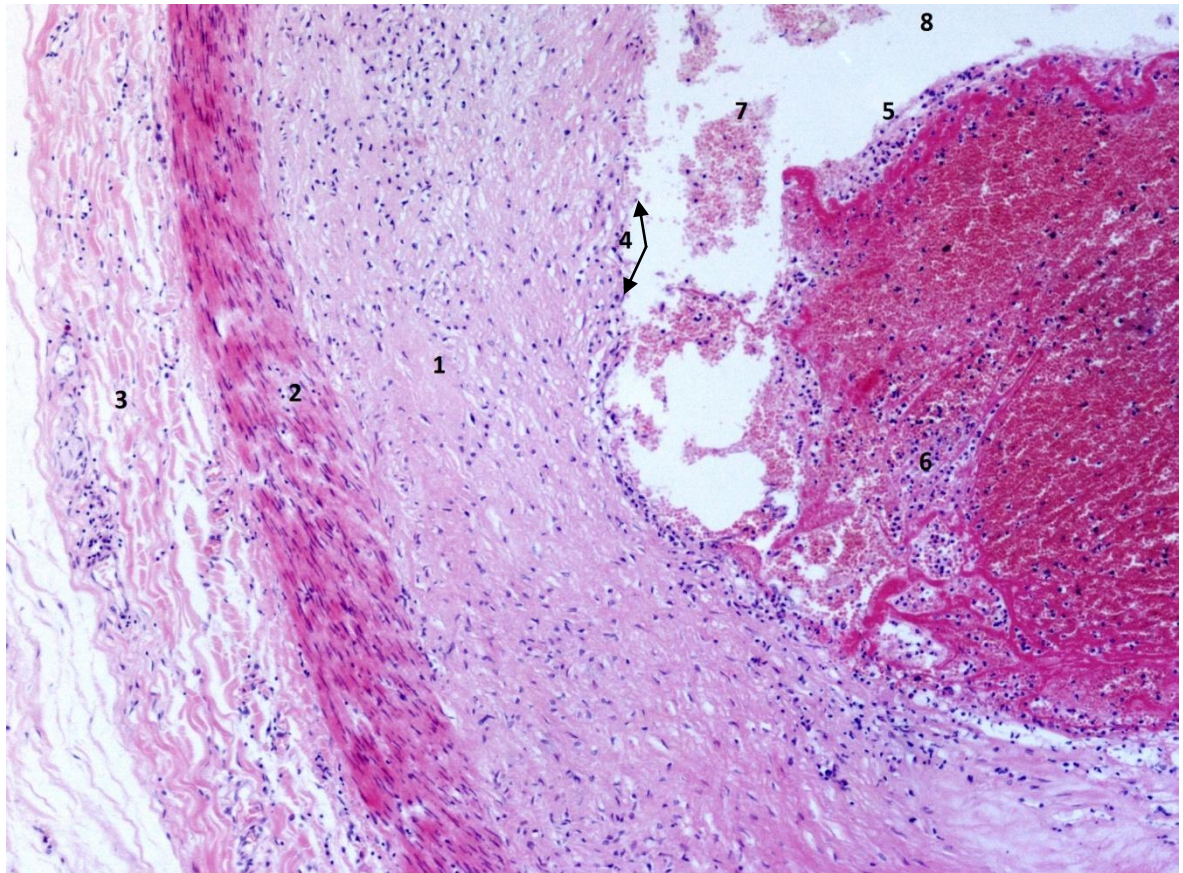
4 – Tunica adventitia je bez patologických změn, rozeznáváme řídké kolagenní vazivo a tmavá jádra vazivových buněk.

5 – Foam cells, neboli pěnové buňky vznikající z makrofágů, akumulujících lipidy.

6 – Kašovitá hmota, nekrotické ložisko, které způsobuje vyčnívání stěny artérie do lumina artérie, po obvodu obalený fibrózním pouzdem, které je tvořeno převážně kolagenními vlákny a buňkami hladké svaloviny. Typicky na tento plát shora nasedá množství foam cells.

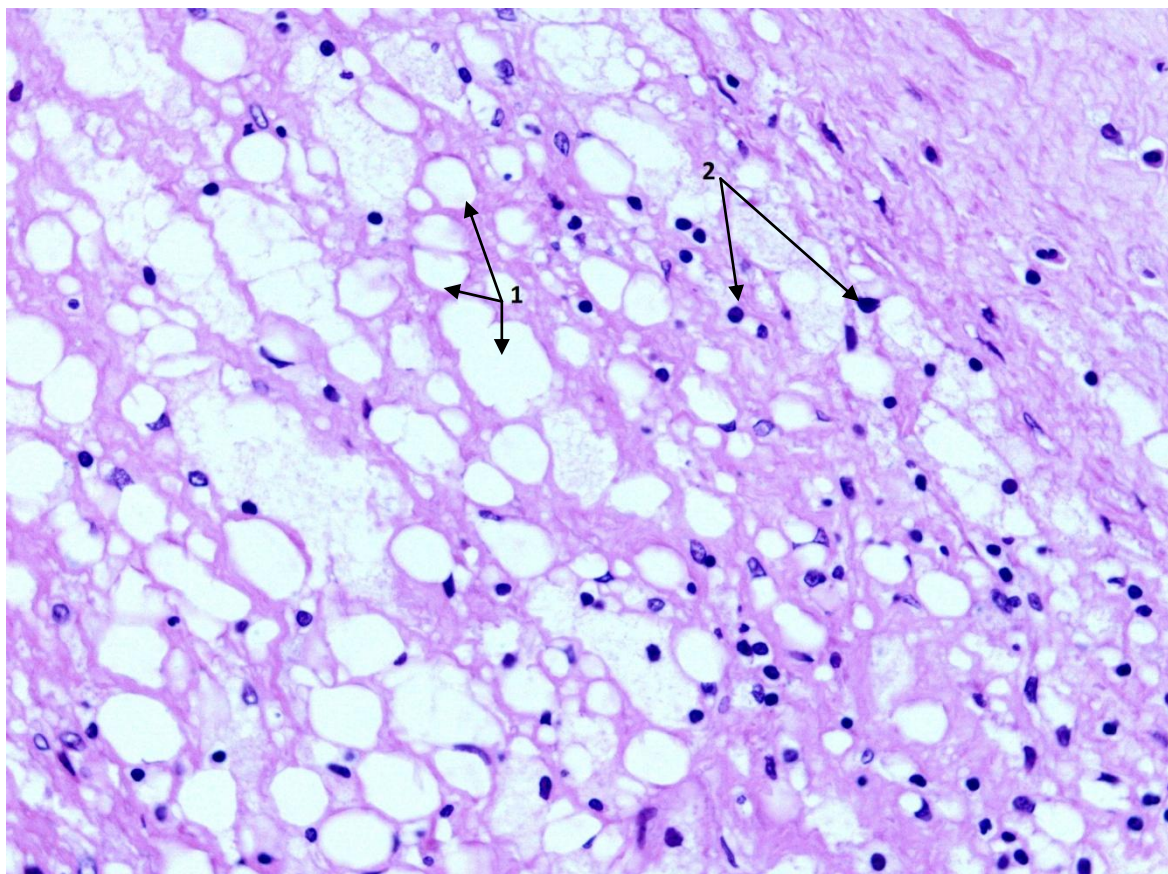
7 – Tunica intima kompletně několikanásobně rozšířila svou tloušťku.





**Obrázek 9 – Artérie s usazeným trombem, zvětšeno 10x**

- 1 – Tunica intima je opět viditelně zesílená s množstvím mezibuněčné hmoty, kolagenním vazivem.
- 2 – Tunica media zůstává bez změn.
- 3 – Tunica adventitia zůstává bez změn, tvořená řídkým kolagenním vazivem.
- 4 – Jádra endotelových buněk.
- 5 – Zachycování ostatních krevních elementů z lumina artérie na povrch trombu, průtok krve je kvůli trombotické překážce obtížnější.
- 6 – Krevní trombus s viditelnou lymfatickou infiltrací. Trombus je pevně ukotven ke stěně artérie.
- 7 – Zachycené zbytky krve v luminu artérie.
- 8 – Pozorujeme, jak se lumen artérie zužuje.

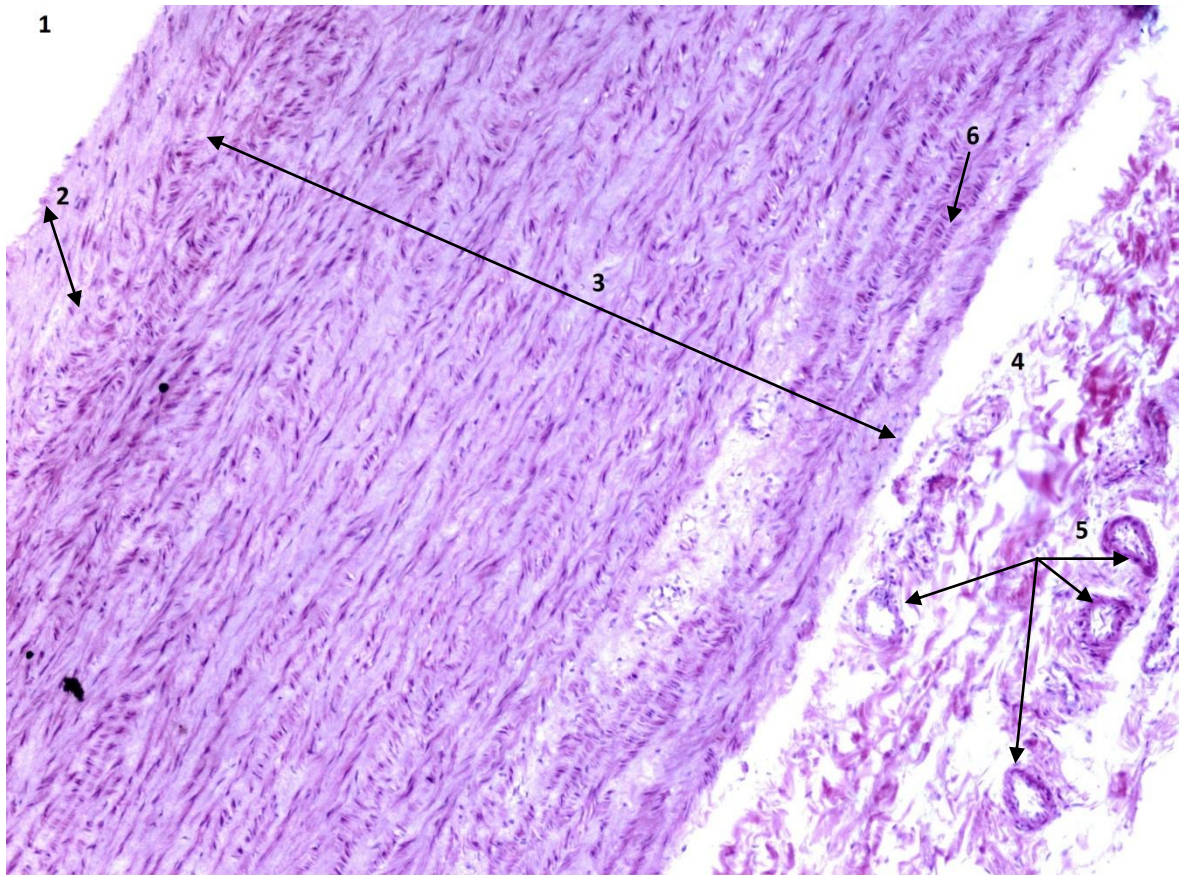


Obrázek 10 – Foam cells, zvětšeno 40x

1 – Foam cells, neboli pěnové buňky a jejich nahromadění typické pro aterosklerotickou fázi intermediálních lézí. Pěnové buňky jsou původem makrofágy, které vycestují do cévních vrstev tunica intima, strádají zde lipidy a tvoří kompaktní plát ve stěně cévy.

2 – Jádra buněk vazivové tkáně subendotelové vrstvy.

### 5.3 Aorta bez aterosklerotických změn



Obrázek 11 – Aorta bez aterosklerotických změn, zvětšeno 10x

1 – Lumen aorty.

2 – Tunica intima tvoří tenkou vrstvu stěny aorty, je složena z řídkého kolagenního vaziva a na povrchu jsou umístěné endotelové buňky.

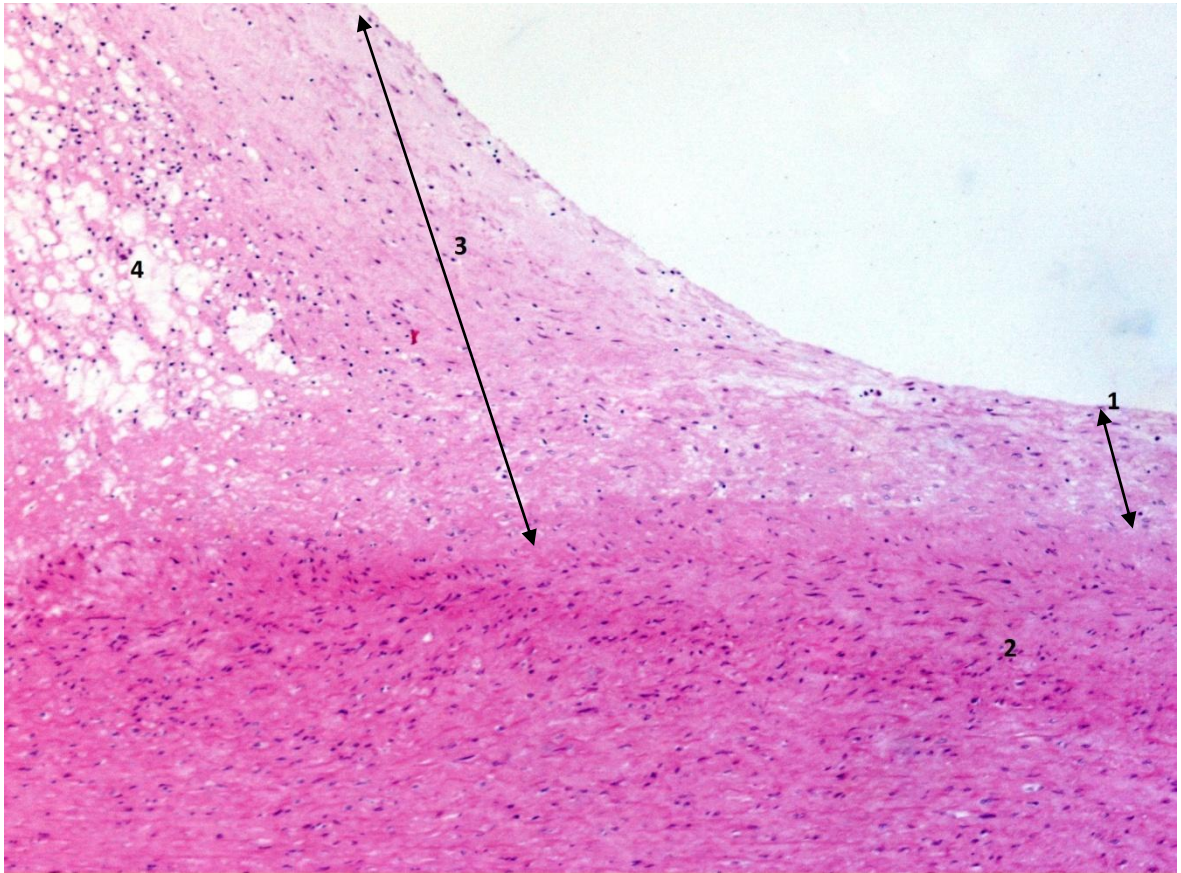
3 – Tunica media je nejsilnější vrstvou, jsou viditelná její cirkulárně uspořádané buňky hladkého svalu.

4 – Tunica adventitia z kolagenního vaziva.

5 – Zřetelně viditelné vasa vasorum kompaktně uloženo a chráněno vazivovou vrstvou tunica adventitia.

6 – Hladké svalové buňky jsou protáhlé a nacházejí se mezi elastickými blankami, vytváří tak pomyslné proužkování.

## 5.4 Aorta s aterosklerotickými změnami



Obrázek 12 – Aorta s narůstajícím aterosklerotickým plátem, zvětšeno 10x

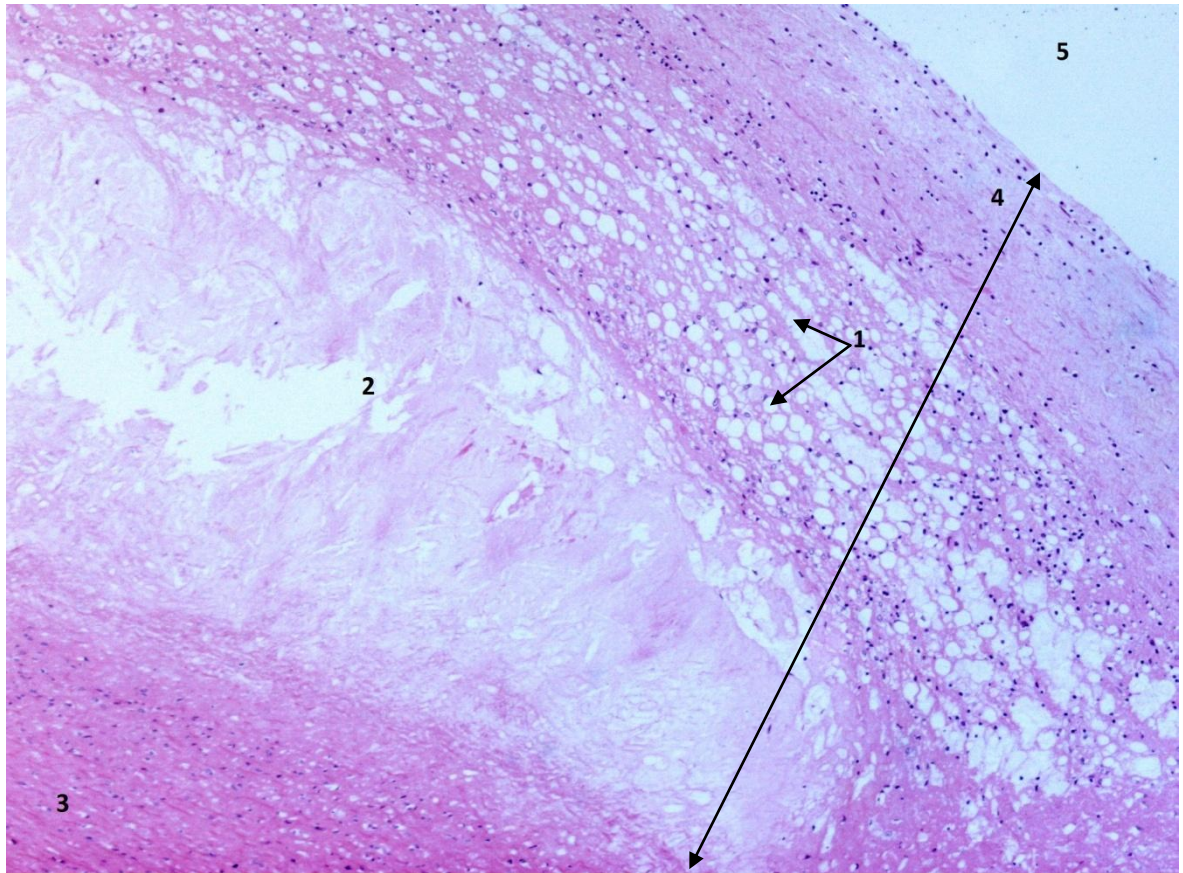
Obrázek 12 jasně ukazuje nárůst buněčné a mezibuněčné hmoty v oblasti tunica intima. Můžeme porovnávat fyziologickou tloušťku stěny aorty a rozšířenou zmožutněnou stěnu aorty s průběhem aterosklerotických změn.

1 – Tunica intima je v tomto místě bez aterosklerotických změn.

2 – Tunica media.

3 – Mohutná tunica intima, která se vlivem aterosklerotických změn několikanásobně rozšířila směrem do lumina aorty. Pozorujeme nápadné aterosklerotické změny ve srovnání s místem 1.

4 – Foam cells doprovázející proces tvorby aterosklerotického plátu.



**Obrázek 13 – Aorta s aterosklerotickými změnami, zvětšeno 10x**

1 – Vrstva foam cells umístěná nad nekrotickým ložiskem, příznivě přispívá k rozšiřování stávajícího ložiska.

2 – Kašovitá hmota tvořící nekrotizující ložisko. Ložisko obsahuje extracelulárně nahromaděné lipidy, je opět obalené fibrózním pouzdrém s množstvím hladkých svalových buněk.

3 – Tunica media.

4 – Tunica intima nabývá opět širších rozměrů oproti svému fyziologickému tvaru. Můžeme jasně oddělit části intimy, a to nejsvrchněji uložený pás buněk hladké svaloviny s kolagenními vlákny, pod ním střední vrstvu tvořící pás foam cells a spodní vrstvu tvořenou nekrotickým aterosklerotickým ložiskem.

5 – Lumen aorty.

## 6 Diskuze

Histologie nám umožňuje pozorovat lidské tkáně a biologické struktury mikroskopicky, na buněčné úrovni. V našem případě bylo využito skutečnosti, že cévní stěna podléhá jistým pravidlům biologické stavby na úrovni svých buněk. Zkoumali jsme tedy histologickou stavbu cév, konkrétně artérií, ve kterých dochází k aterosklerotickému procesu.

Úkolem této bakalářské práce byl histologický teoretický popis struktury cév a dále pak praktické zhotovení a průkaz aterosklerotických změn v buněčné struktuře artérií pomocí histologických technik. Zvolili jsme základní histologickou techniku, a to zpracování preparátu barvicí metodou hematoxylin - eosin. Tato metoda se využívá běžně v klinických laboratořích k základnímu hodnocení tkání a podléhá standardním operačním postupům. Další barvicí metody konkretizují a specifikují výsledek, v našem případě nebyl důvod k další specifikaci preparátů, jelikož všechny buněčné struktury, které jsme chtěli pozorovat se pomocí metody hematoxylin – eosin bez problémů zobrazily. Bazický hematoxylin a acidický eosin obarvily buněčné elementy dle jejich afinity k barvivům, cytoplazmu buněk a mezibuněčnou hmotu v odstínech růžových, jádra buněk v odstínech tmavě modrých, erytrocyty se svalovými buňkami červeně. Mikroskopické zvětšení bylo zvoleno tak, abychom dosáhli nejlepšího možného studia buněčných struktur a tkání, konkrétně se jednalo o zvětšení 10x, 20x a 40x. Pro popis preparátů byly vybrány nejčastěji obrázky se zvětšením 10x, jelikož toto zvětšení nejlépe vystihuje stanovený problém, viditelné aterosklerotické změny. Zvolený mikroskop Leica DMLB a jeho příslušenství zaznamenal preparáty v požadující kvalitě, výběr jiného zobrazovacího zařízení (například pro získání podrobnějšího výsledku) nebyl na místě.

Na preparátech artérie a aorty bez aterosklerotických změn byla ověřena fyziologická stavba cév. Buněčné struktury na preparátech viditelných na obrázku 6, 7 a 11 byly klasifikovány dle základní histologické stavby stěny cév, popisované v teoretické části práce.

Na preparátech artérie a aorty s aterosklerotickými změnami, tedy na obrázcích

8, 9, 10, 12 a 13, jsme prakticky dokázali významné změny v jejich histologické struktuře a jejich stavbě. Nejvýznamnější morfologické změny byly pozorovány na úrovni cévní vrstvy tunica intima, jelikož se aterosklerotický proces odehrává právě zde.

Tunica intima byla na obrázcích (8, 9, 10, 12 a 13) několikanásobně zesílená či viditelně zasahovala do lumina cévy. Na obrázku 12 je dokonce patrný nástup zesílení vrstvy tunica intima, oproti fyziologické vrstvě. Na obrázcích 8, 12 a 13 můžeme diferencovat vývojové formy aterosklerotických změn, například oblasti pěnových buněk, ohraničená nekrotická ložiska či vrstvy zmnožených buněk hladké svaloviny a řídkého kolagenního vaziva. Vrstvy tunica media a tunica adventitia zůstaly bez viditelných mikroskopických změn, neprobíhají v nich žádné zásadní aterosklerotické změny. Endotelové buňky si také zachovaly stejnou strukturu a lokalizaci, neboť změna vlastností a charakteru endotelových buněk s postupným aterosklerotickým procesem nastává na úrovni samotné biochemie procesů v buňkách, nikoli na mikroskopické úrovni. Můžeme shrnout hlavní buněčné faktory, které se podílejí na aterosklerotickém procesu, a to lipoproteiny, makrofágy, endotelové buňky, buňky hladké svaloviny a ve své podstatě také trombocyty. Obrázek 9 prokazuje jedno z definitivních stádií aterosklerotických změn, a to zachycení krevního trombu na stěnu artérie. Krevní trombus může znamenat fatální, dokonce až smrtelnou hrozbu, nejčastěji v podobě lokální ischemie. Vyvrcholením lokální ischemie bývá nejčastěji infarkt myokardu či cévní mozková příhoda.

Tyto výsledky praktické části práce mohou posloužit jako demonstrativní příklad počínajících, později i definitivních stádií aterosklerotických změn. Po všech zjištěních, jaká má ateroskleróza nepříznivá konečná stádia patologického procesu, jak ohrožuje celosvětovou lidskou populaci na životech, by bylo na místě pojednat také o faktorech předcházejících samotnému aterosklerotickému procesu, začít tedy od samotného začátku. Následující zjištění byla konfrontována s příspěvkem odborného zdravotnického časopisu Zdravotnictví + medicína (9/2015).

*„Kardiovaskulární onemocnění na podkladě aterosklerózy jsou stále nejčastější příčinou úmrtí téměř na celém světě. V Evropě na tato KVO umírají každým rokem více než 4 miliony lidí.“ (Zdravotnictví + medicína, Rosolová, 9/2015)*

Pokud uvažujeme nad počátečním spouštěcím mechanismem aterosklerózy, jednoznačně jím je strava. Složení stravy se v následujících dekadách výrazně upravilo, lidé jsou zvyklí na vysoký standard v podobě energeticky nadbytečně bohaté stravy plné nenasycených mastných kyselin, nacházejících se především v živočišných tucích. Samozřejmě, že energeticky bohatá strava nepředurčuje riziko aterosklerotických změn u všech jedinců, vznik změn závisí také na dalších

dědičných a rizikových faktorech. Z dědičných faktorů nepříznivě ovlivňujících aterosklerotický proces je to jistě inzulinová rezistence či kardiometabolický syndrom. U pacientů s kardiometabolickým syndromem se projevuje rozvoj dyslipidémie, tj. vyšší koncentrace TAG a nižší koncentrace HDL cholesterolu v krvi, zvyšuje se krevní tlak a dochází také často k rozvoji poruch metabolismu glukózy. Z ovlivnitelných rizikových faktorů můžeme jednoznačně uvést nedostatečný pohyb v závislosti na sedavém způsobu života, kouření či nadměrný příjem vysokoenergetické stravy, která často vychází z nesprávných stravovacích návyků převzatých z rodinných zvyklostí. V posledním z příkladů je těžké posoudit, zda jde o genetické predispozice či pouze stále se opakující špatné stravovací návyky, které si rodina utváří. Rizikové faktory můžeme shrnout, jako celkový obraz dnešní uspěchané doby 21. století.

Nutno podotknout, že se samotný aterosklerotický proces neprojevuje žádnou bolestí, přichází nenápadně bez obtíží omezujících postiženého (výjimkou jsou následné nasedající problémy, které jsou výsledným vyvrcholením aterosklerotických obtíží, např. ischemická bolest).

*„Ze studie INTERHEART je velmi dobře známo, že kardiovaskulární riziko několika přítomných rizikových faktorů pro aterosklerózu a KVO se nesčítá, ale násobí.“ (Zdravotnictví + medicína, Rosolová, 9/2015)*

Z toho vyplývá, že podstatně zvýšené riziko mají pacienti právě s kardiometabolickým syndromem a také různí ostatní pacienti, kteří disponují několika více rizikovými faktory současně. Uvědomme si, že většina jedinců ohrožených aterosklerózou patří do skupiny multifaktoriálně spjatých rizikových faktorů. Pokud člověk trpí obezitou, z největší pravděpodobnosti má taktéž deficit fyzických aktivit. Nezanedbatelná část kuřáků kompenzuje kouřením své stresové sedavé zaměstnání. Takovýchto příkladů bychom mohli uvést nesčetně.

Tato bakalářská práce se zabývala problémem aterosklerotických změn cíleně z histologického hlediska. Histologické vyšetření a provedení průkazu změn v buněčné struktuře patří, jak již bylo zmíněno, k definitivním stádiím, nikoli k preventivním či časně diagnostickým opatřením. Je na místě zmínit také postupy, které odhalují, diagnostikují, a jsou primárně určeny k léčbě aterosklerózy. Mezi samotná vyšetření, která poukazují na probíhající aterosklerotické změny, by jistě patřila biochemická vyšetření aterosklerotických markerů. Biochemické markery, které sledujeme, jsou hladina cholesterolu jak celkového, tak LDL cholesterolu



a HDL cholesterolu, triacylglyceroly popř. další biochemické parametry. Po zvýšené hladině těchto parametrů by mělo být doporučeno vyšetření sonografické či angiografické, odhalující patologické změny v průsvitu artérií, jejich zúžení atd. Angiografické vyšetření je indikováno nejčastěji pro zobrazení srdečních artérií a končetinových artérií. Farmakologická terapie také není výjimkou, ze zmíněných léčiv uvádíme např. statiny či hypolipidemika ordinovaná lékařem.

Při výsledném zhodnocení celého problému by měl být kladen důraz právě na samotné preventivní opatření a kroky, pomocí kterých se ateroskleróze můžeme primárně vyvarovat. Důležitými doporučenými opatřeními by jednoznačně měla být změna, která se týká zdravého životního stylu, ať už se jedná o snížení příjmů nasycených živočišných tuků za účelem snížení samotné hladiny celkového cholesterolu a LDL cholesterolu, konzumování potravin obohacených o rostlinné steroly, snížení nadměrné hmotnosti, snížení nadměrného příjmu alkoholu a jednoduchých sacharidů a v neposlední řadě zvýšení fyzické aktivity.

## 7 Závěr

Bakalářská práce se věnovala poměrně závažnému aktuálnímu zdravotnímu problému současné populace, ateroskleróze. Konkrétně byla práce zaměřena na téma histologie artérií a aterosklerotických změn. Patologický aterosklerotický proces probíhá na úrovni buněk a tkání, proto byl zvolen právě vědní obor histologie. Histologické techniky popisují a umožňují zobrazení těchto detailních struktur na co nejmenší a nejpřesnější mikroskopické úrovni.

Cílem teoretické části bylo studium základní histologické úrovně a stavby cév, konkrétně artérií elastického a svalového typu, ať už se jedná o jejich fyziologickou stavbu, či jejich následné patologické strukturní a funkční změny.

Cílem praktické části bylo kompletní zhotovení histologických preparátů, které objasnily prakticky popsanou fyziologickou strukturu artérií a jejich následné aterosklerotické změny. Byla dodržena v počátku stanovená základní barvicí metoda hematoxylin – eosin. Připravené preparáty měly být pomocí mikroskopického pozorování zhodnoceny.

Všechny tyto stanovené cíle se v práci podařily jak teoreticky, tak prakticky splnit. Díky bakalářské práci měl autor možnost důkladně se seznámit se zpracováním histologického materiálu, naučit se kompletně zhotovovat histologické preparáty a pracovat s moderními mikroskopickými technikami. Bakalářská práce by mohla být v budoucnu dále rozšířena nejen v rámci vědního oboru histologie, ale také o hlubší znalosti biochemie, anatomie, angiologie, nebo například o studium genetických predispozic k aterosklerotickým změnám.

## 8 Seznam informačních zdrojů

### Seznam literárních zdrojů:

1. BÁRTOVÁ, Jarmila. *Přehled patologie*. Vydání první. Praha: Univerzita Karlova v Praze, Nakladatelství Karolinum, 2015. ISBN 978-80-246-2745-8.
2. BEDNÁŘ, Blahoslav. *Patologie : Učebnice pro lékařské fakulty*. 1. vyd. Praha: Avicenum, 1982. 682 s. ISBN nepřirazeno.
3. BERÁNEK, Martin a Miloš TICHÝ. *Vybrané kapitoly z klinické biochemie: pro studijní program Zdravotnická bioanalytika*. 1. vyd. Praha: Karolinum, 2013, 197 s. ISBN 978-80-246-2186-9.
4. ČEŠKA, Richard. *Cholesterol a ateroskleróza, léčba dyslipidemií*. Vyd. 4., V Tritonu 2. Praha: Triton, 2012, 406 s. ISBN 978-80-7387-599-2.
5. ČEŠKA, Richard a Jaroslava ŠTOCHLOVÁ. *Jak na zvýšený cholesterol*. Vyd. 1. Praha: Triton, 2002, 54 s. ISBN 80-7254-286-9.
6. DYLEVSKÝ, Ivan. *Funkční anatomie*. 1. vyd. Praha: Grada Publishing, 2009, 532 s. ISBN 978-80-247-3240-4.
7. FERNÁNDEZ-AVILÉS, Francisco (ed.). *Diagnostic and interventional procedures for coronary artery disease: implications for selection of contrast media*. Oxford : Oxford University Press, 2005. 24 s.
8. JERIE, Pavel. *Kardiologie praktického lékaře*. 2. upr. vyd. Praha: SZdN, 1967, 343 s. ISBN nepřirazeno.
9. KONRÁDOVÁ, Václava, Luděk VAJNER a Jiří UHLÍK. *Histologie: přednášky pro bakalářské studium*. Vyd. 1. Jinočany: H & H Vyšehradská, 2005, 186 s. ISBN 80-7319-009-5.
10. LÜLLMANN-RAUCH, Renate. *Histologie*. 1. české vyd. Praha: Grada, 2012, xx, 556 s. ISBN 978-80-247-3729-4.
11. MAČÁK, Jiří, Jana MAČÁKOVÁ a Jana DVOŘÁČKOVÁ. *Patologie*. 2., dopl. vyd. Praha: Grada, 2012, 347 s. ISBN 978-80-247-3530-6.
12. MARTÍNEK, Jindřich a Zdeněk VACEK. *Histologický atlas*. 1. vyd. Praha: Grada, 2009, 134 s. ISBN 978-80-247-2393-8.
13. MESCHER, Anthony. *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas*. 12th edition. United States: McGraw Hill Professional, 2010, 480 s. ISBN 978-007-127190-5.

14. *Od endoteliální dysfunkce k ischemické chorobě srdeční: zpracováno na základě interaktivního semináře Praha, 16. dubna 1999.* 1. vyd. Praha: Galén, 1999, 127 s. ISBN 80-7262-026-6.
15. PAKURAR, Alice S. and John W. BIGBEE. *Digital Histology: An interactive CD atlas.* Wiley-Backwell. ISBN 978-0-470-47539-3.
16. PAULSEN, Douglas F. *Histologie a buněčná biologie: opakování a příprava ke zkouškám.* Vyd. 1. Jinočany: H & H, 2004, 433 s. ISBN 80-7319-024-9.
17. PÍŤHA, Jan a Karel ROZTOČIL ed. *Angiologie.* Vyd. 1. Praha: Triton, 2014, 263 s. ISBN 978-80-7387-716-3.
18. POLEDNE, Rudolf. *Vražedný cholesterol.* Praha: Grada, 1993, 89 s. ISBN 80-7169-001-5.
19. RACEK, Jaroslav. *Klinická biochemie.* 2. přeprac. vyd. Praha: Galén, 2006, 329 s. ISBN 80-7262-324-9.
20. ROSS, Michael H. and Wojciech PAWINA. *Histology a text and atlas.* 5th ed. NBN International, 2006, 906 p. ISBN 978-0-7817-7221-1.
21. SEDLÁČEK, Petr. *Jak se vyznat v laboratorních hodnotách: Jak správně rozumět laboratorním výsledkům?, Jaké jsou normální hodnoty?, Co znamenají odchylky?.* Praha: Eminent, 2006, 145 s. ISBN 80-7281-256-4.
22. SOŠKA, Vladimír. *Poruchy metabolismu lipidů: diagnostika a léčba.* 1. vyd. Praha: Grada, 2001, 166 s., [12] s. obr. příl. ISBN 80-247-0234-7.
23. VOET, Donald a Judith G VOET. *Biochemistry.* 4th ed. Hoboken: Wiley, 2011, xxv, 1428, 53 s. ISBN 978-0-470-57095-1.
24. *Zdravotnictví + medicína.* Praha: MF Medical & Digital Media, 2015, 2015(9).
25. ZIMA, Tomáš. *Laboratorní diagnostika.* 3., dopl. a přeprac. vyd. Praha: Galén, 2013, xlii, 1146 s. ISBN 978-80-7492-062-2.
26. ŽÁK, Aleš. *Ateroskleróza: nové pohledy.* 1. vyd. Praha: Grada, 2011, 183 s., [viii] s. obr. příl. ISBN 978-80-247-3052-3.

### Seznam internetových zdrojů:

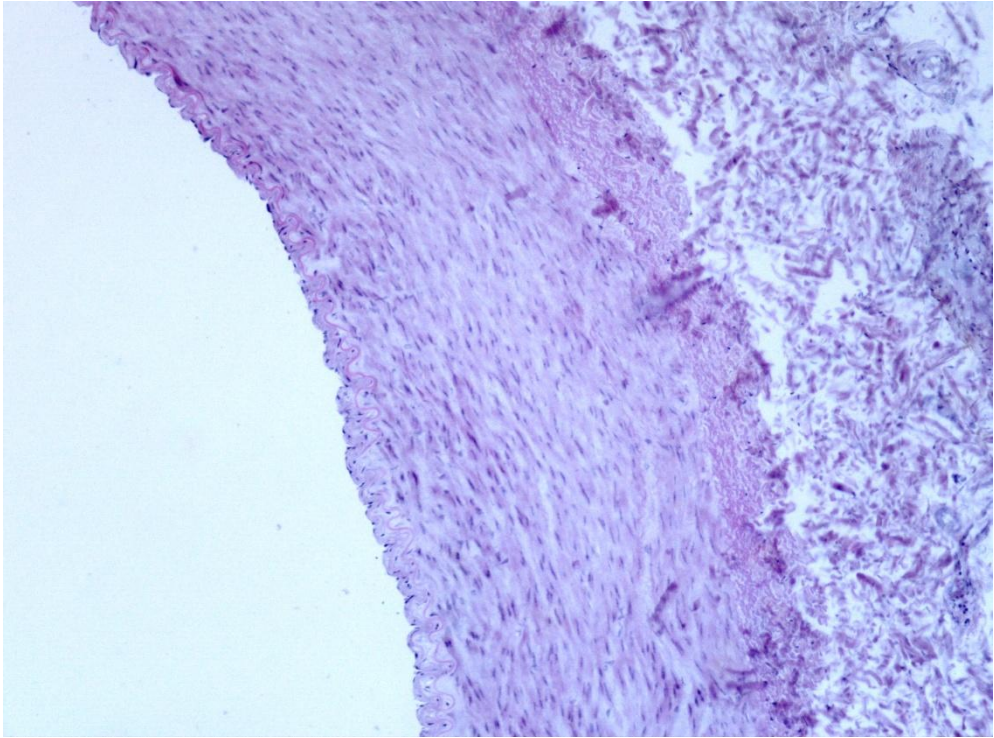
28. *BLW Diagnostics: LDL Cholesterol* [online]. Praha: BLW Diagnostics, 2015 [cit. 2016-02-07]. Dostupné z: <http://www.blw.cz/z-lekarskeho-pohledu/kardiovaskularni-onemocneni/ldl-cholesterol.html>
29. Doporučení: Společné doporučení České společnosti klinické biochemie ČLS JEP a České společnosti pro aterosklerózu ČLS JEP. *Česká společnost klinické biochemie* [online]. Praha: ČSKB, 2007 [cit. 2016-02-07]. Dostupné z: <http://www.cskb.cz/res/file/KBM-pdf/2010/2010-1/dop-lipidy.pdf>
30. FALK, Erling. Journal of the American College of Cardiology: Pathogenesis of Atherosclerosis. In: *Science Direct* [online]. Aarhus (Denmark): Elsevier, 2006 [cit. 2016-02-07]. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S073510970502872X>
31. KARÁSEK, David a Helena VAVERKOVÁ a kol. Endoteliální dysfunkce, možnosti její detekce a využití v klinické praxi. In: *Interní medicína pro praxi* [online]. Olomouc: Solen, 2004 [cit. 2016-02-08]. Dostupné z: <http://www.internimedicina.cz/pdfs/int/2004/09/06.pdf>
32. MALÍK, Jan. Funkce endotelu – klíč k pochopení aterosklerózy? In: *Mladá fronta: Zdravotnictví a medicína* [online]. Praha: Mladá fronta, 2003 [cit. 2016-02-08]. Dostupné z: <http://zdravi.e15.cz/clanek/priloha-lekarske-listy/funkce-endotelu-klic-k-pochopeni-aterosklerozy-153802>

## 9 Seznam symbolů a zkratek

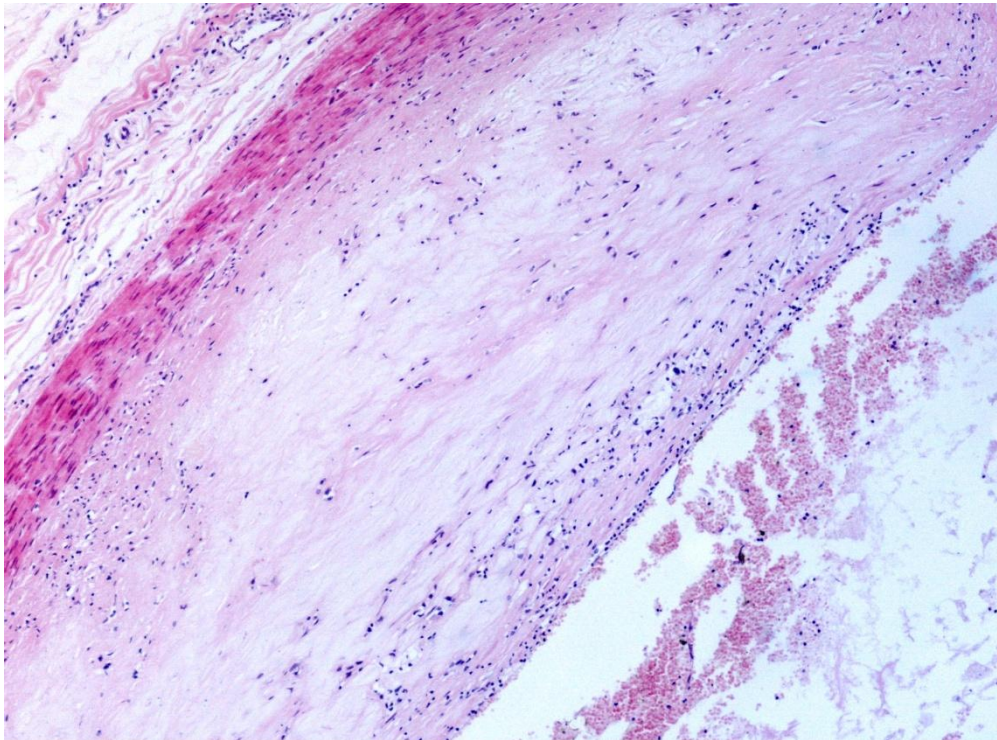
ČLS JEP	Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně
HDL	lipoprotein o vysoké hustotě
H-E	hematoxylin – eosin
hod	jednotka času; hodina
H <sub>2</sub> O	voda, molekulární vzorec vody
CH	chilomikrony
IDL	intermediální lipoproteinové částice
KVO	kardiovaskulární onemocnění
LDL	lipoprotein o nízké hustotě
min	jednotka času; minuta
MK	mastná kyselina, mastné kyseliny
mmol/l	jednotka koncentrace; milimol na litr
NO	oxid dusnatý
OH	hydroxylová funkční skupina
TAG	triacylglyceroly
VLDL	lipoprotein o velmi nízké hustotě
μm	jednotka délky; mikrometr

Pozn.: V seznamu nejsou uvedeny symboly a zkratky všeobecně známé nebo používané jen ojediněle s vysvětlením v textu.

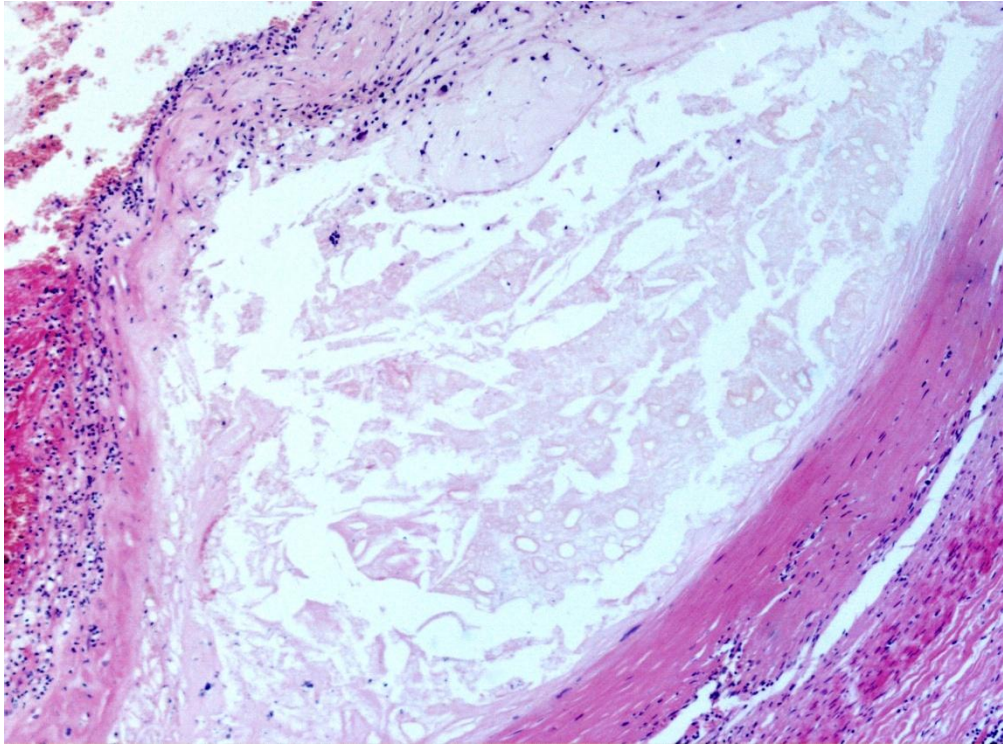
## 10 Přílohy



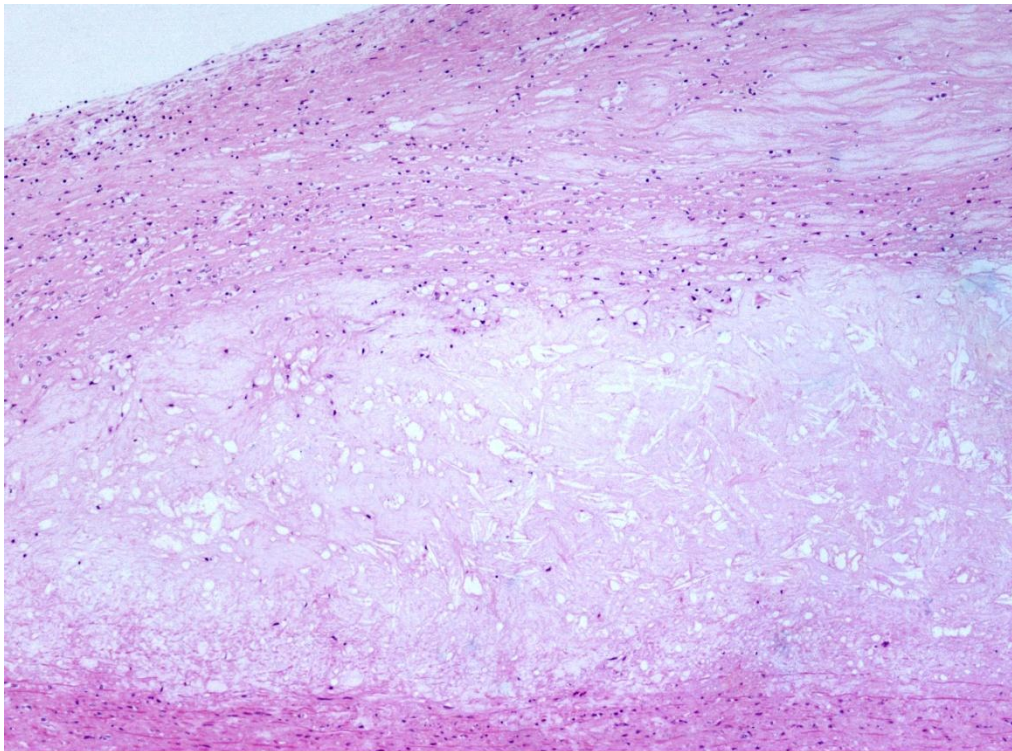
Příloha 1 – Artérie bez aterosklerotických změn, zvětšeno 10x



Příloha 2 – Artérie s aterosklerotickými změnami, zvětšeno 10x



**Příloha 3 – Artérie s aterosklerotickými změnami, zvětšeno 10x**



**Příloha 4 – Aorta s aterosklerotickými změnami, zvětšeno 10x**



# 11 Seznam obrázků

<b>Obrázek 1 – Schéma stavby arterií a vén</b> ( <a href="http://www.kardiosystem.websnadno.cz/Cevy.html">http://www.kardiosystem.websnadno.cz/Cevy.html</a> ).....	12
<b>Obrázek 2 – Schéma stavby volného cholesterolu</b> ( <a href="https://www.prirodovedci.cz/chemik/clanky/strasak-jmenem-cholesterol">https://www.prirodovedci.cz/chemik/clanky/strasak-jmenem-cholesterol</a> ).....	19
<b>Obrázek 3 – Exponenciální nárůst rizika koronárního onemocnění srdce závislý na koncentraci cholesterolu v séru</b> (RACEK, Jaroslav. <i>Klinická biochemie</i> . 2. přeprac. vyd. Praha: Galén, 2006, 329 s. ISBN 80-7262-324-9.).....	22
<b>Obrázek 4 - Patologicko-anatomické rozdělení aterosklerotických změn</b> ( <a href="http://atvb.ahajournals.org/content/27/1/15.figures-only">http://atvb.ahajournals.org/content/27/1/15.figures-only</a> ).....	29
<b>Obrázek 5 – Kyvety s médii pro provedení kroků deparafinace a barvení H-E .....</b>	37
<b>Obrázek 6 – Preparát artérie bez aterosklerotických změn, zvětšeno 20x.....</b>	38
<b>Obrázek 7 - Preparát artérie bez aterosklerotických změn, zvětšeno 40x .....</b>	39
<b>Obrázek 8 – Artérie s aterosklerotickými změnami, zvětšeno 10x .....</b>	40
<b>Obrázek 9 – Artérie s usazeným trombem, zvětšeno 10x .....</b>	41
<b>Obrázek 10 – Foam cells, zvětšeno 40x .....</b>	42
<b>Obrázek 11 – Aorta bez aterosklerotických změn, zvětšeno 10x .....</b>	43
<b>Obrázek 12 – Aorta s narůstajícím aterosklerotickým plátem, zvětšeno 10x.....</b>	44
<b>Obrázek 13 – Aorta s aterosklerotickými změnami, zvětšeno 10x.....</b>	45

## **12 Seznam tabulek**

<b>Tabulka 1 – Přehled kroků spojených se zaléváním tkáně.....</b>	<b>34</b>
<b>Tabulka 2 – Přehled kroků deparafinace.....</b>	<b>35</b>
<b>Tabulka 3 – Přehled barvicí metody hematoxylin – eosin .....</b>	<b>36</b>

## **13 Seznam příloh**

<b>Příloha 1 – Artérie bez aterosklerotických změn, zvětšeno 10x .....</b>	<b>55</b>
<b>Příloha 2 – Artérie s aterosklerotickými změnami, zvětšeno 10x.....</b>	<b>55</b>
<b>Příloha 3 – Artérie s aterosklerotickými změnami, zvětšeno 10x.....</b>	<b>56</b>
<b>Příloha 4 – Aorta s aterosklerotickými změnami, zvětšeno 10x.....</b>	<b>56</b>