

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická

Rezoluce zánětu v ateroskleróze

Martina Dubrovina

Bakalářská práce

2021

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická  
Akademický rok: 2020/2021

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE (projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Martina Dubrovina**  
Osobní číslo: **C18212**  
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**  
Studijní obor: **Zdravotní laborant**  
Téma práce: **Rezoluce zánětu v ateroskleróze**  
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

### Zásady pro vypracování

Seznamte se s problematikou systémové zánětlivé reakce se zaměřením na lipidové mediátory, a to především na jejich úlohu v rezoluci zánětu. Uveďte mechanismy zánětlivé reakce v procesu aterosklerózy včetně úlohy inflamasonů, procesu eferocytózy a narušené rezoluce zánětu. Věnujte pozornost pro-rezolučně působícím mediátorům a dopadu deficitu těchto mediátorů na selhání rezolučního procesu a přetrvávání zánětlivé reakce. Proved'te literární rešerši k této problematice, při vyhledávání literárních údajů využijte elektronické databáze Science Direct, NCBI Pubmed, Web of Science.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**  
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**

Forma zpracování bakalářské  
práce:

**tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Vedoucí bakalářské práce: **MUDr. Vladimíra Nováková  
Mužáková, Ph.D.**  
Katedra biologických a biochemických  
věd

Datum zadání bakalářské práce: **18. prosince 2020**  
Termín odevzdání bakalářské  
práce: **2. července 2021**

L.S.

**prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.**  
děkan

**prof. Mgr. Roman Kand'ár, Ph.D.**  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 26. února 2021

Prohlašuji:

Práci s názvem Rezoluce zánětu v ateroskleróze jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury. Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 9. 6. 2021

Martina Dubrovina v. r.

Na tomto místě bych ráda poděkovala vedoucí své bakalářské práce MUDr. Vladimíře Novákové Mužákové, Ph.D. za odborné vedení, ochotu, čas a pomoc při zpracování této bakalářské práce.

## **ANOTACE**

Ateroskleróza je chronický zánětlivý proces postihující arteriální cévní stěnu, kdy konečný klinický výsledek určuje rovnováha prozánětlivých a zánětlivých mechanismů. Rozvoj aterosklerózy je iniciován infiltrací a modifikací lipoproteinů a jejich absorpcí pomocí makrofágů, s následnou tvorbou lipidových pěnových buněk, které iniciují tvorbu aterosklerotických lézí a nedostatečné eferocytické odstranění apoptotických a pěnových buněk udržuje progresi lézí. Vadná eferocytóza udržuje progresi lézí a vede k akumulaci sekundárně nekrotických makrofágů a pěnových buněk a tvorbě pokročilých lézí, až po jejich destabilizaci a stádium trvajícího zánětu. Rezoluce zánětu má důležitou roli v ukončení zánětlivé odpovědi a je zprostředkována pomocí specializovaných pro-rezolučních lipidových mediátorů. Jedním z hlavních účinků mediátorů rezoluce zánětu je fenotypová přeměna prozánětlivých makrofágů na makrofágy, které potlačují zánět a podporují hojení.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

ateroskleróza, inflamason, makrofág, eferocytóza, rezoluce zánětu

## **TITLE**

Inflammation and its resolution in atherosclerosis

## **ANNOTATION**

Atherosclerosis is a chronic inflammatory process which affects the arterial vessel wall, when the balance of pro-inflammatory and inflammation-resolving mechanisms dictates the final clinical outcome. The development of atherosclerosis is initiated by infiltration and modification of lipoproteins and their absorption by macrophages, with ensuing formation of lipid-filled foam cells, initiate atherosclerotic lesion formation, and deficient efferocytotic removal of apoptotic cells and foam cells sustains lesion progression. Defective efferocytosis maintains the progression of the lesions and leads to the accumulation of secondary necrotic macrophages and foam cells and the formation of advanced lesions, only after their destabilization and the stage of persistent inflammation. One of the major effects of inflammation resolution mediators is phenotypic conversion of pro-inflammatory macrophages into macrophages that suppress inflammation and promote healing.

**KEY WORDS**

atherosclerosis, inflammasome, macrophage, eferocytosis, resolution of inflammation

## OBSAH

|   |    |
|---|----|
| ÚVOD.....   | 11 |
| 1 Ateroskleróza .....   | 12 |
| 2 Záněť .....   | 13 |
| 3 Kaspázy.....  | 14 |
| 3.1 Klasifikace kaspáz .....  | 14 |
| 3.2 Funkce kaspáz .....   | 14 |
| 4 Inflamasomy.....  | 15 |
| 4.1 NLRP3 inflamasomy .....   | 15 |
| 4.2 Úloha NLRP3 inflamasomů při ateroskleróze .....                             | 15 |
| 4.3 Regulační mechanismy inflamasomů NLRP3 .....                                | 16 |
| 4.4 Inhibitory NLRP3 .....  | 16 |
| 4.5 Signalizace TLR .....   | 18 |
| 5 Makrofágy .....   | 18 |
| 5.1 Makrofágy a ateroskleróza.....  | 18 |
| 5.2 Apoptóza a eferocytóza makrofágů.....                                       | 19 |
| 5.3 Defektní eferocytóza .....  | 20 |
| 5.3.1 Tyrosinkinázový receptor .....  | 21 |
| 5.3.2 Receptor pro LDL související s proteinem 1 .....                          | 21 |
| 5.3.3 Proteiny rodiny transmembránových imunoglobulinů a mucinových domén ..... | 22 |
| 5.4 Fenotypy makrofágů u aterosklerózy .....                                    | 22 |
| 5.5 Cesty regulující retenci a migraci makrofágů v placích .....                | 23 |
| 6 Rezoluce zánětu .....   | 25 |
| 6.1 Rezoluce versus chronický záněť u aterosklerózy.....                        | 25 |
| 6.2 Možnosti cílené rezoluce .....  | 26 |
| 7 Polynenasycené mastné kyseliny.....   | 28 |
| 7.1 Kyselina eikosapentaenová.....  | 28 |
| 7.2 Kyselina dokosahexaenová .....  | 28 |
| 7.3 Kyselina linolová.....  | 29 |
| 7.4 Kyselina arachidonová .....   | 29 |
| 8 Eikosanoidy .....   | 29 |
| 9 Prostanoidy .....   | 29 |
| 9.1 Syntéza prostanoidů .....   | 30 |
| 10 Specializované pro-rezoluční mediátory.....                                  | 32 |
| 10.1 Annexin A1 .....   | 33 |
| 10.2 Lipoxiny .....   | 33 |



|        |  |    |
|--------|--|----|
| 10.2.1 | Lipoxin iniciovaný aspirinem .....                         | 33 |
| 10.3   | Resolviny .....  | 34 |
| 10.3.1 | Resolvin D1.....   | 34 |
| 10.3.2 | Resolvin D2.....   | 34 |
| 10.3.3 | Resolvin D3.....   | 34 |
| 10.3.4 | Resolvin D4.....   | 34 |
| 10.3.5 | Resolvin E1 .....  | 35 |
| 10.3.6 | Resolvin E2 .....  | 35 |
| 10.4   | Maresiny.....  | 35 |
| 10.5   | Protektiny.....  | 35 |
| 10.5.1 | Protektin D1 .....   | 36 |
| 10.6   | Receptory .....  | 36 |
| 10.6.1 | Lipoxin A4 / formyl peptidový receptor 2 .....             | 36 |
| 10.6.2 | Resolvin řady D1 / receptor 32 spojený s G proteinem ..... | 37 |
| 10.6.3 | Resolvin řady D2 / receptor 18 spojený s G proteinem ..... | 37 |
| 10.6.4 | Receptor pro chemerin a resolvin E1 .....                  | 37 |
| 11     | MicroRNA.....  | 38 |
| 11.1   | Mechano-microRNA.....                                      | 38 |
| 11.1.1 | MicroRNA 143 / 145.....                                    | 39 |
| 11.1.2 | MicroRNA-92.....   | 39 |
| 11.1.3 | MicroRNA-712 / 205 .....                                   | 40 |
| 11.1.4 | MicroRNA-155.....  | 40 |
| 11.1.5 | MicroRNA-126.....  | 40 |
| 12     | Oxidační stres.....  | 41 |
| 12.1   | Mechanismy oxidačního stresu.....                          | 41 |
| 12.2   | Nikotinamidadeninukleotidfosfát oxidasa .....              | 42 |
| 12.3   | Endoteliální dysfunkce .....                               | 42 |
| 13     | Antioxidanty .....   | 43 |
| 13.1   | Superoxiddismutáza.....                                    | 43 |
| 13.2   | Kataláza .....   | 44 |
| 13.3   | Glutathion .....   | 44 |
| 13.4   | Koenzym Q .....  | 44 |
| 13.5   | Kyselina lipová.....                                       | 44 |
| 13.6   | Exogenní neenzymatické antioxidanty .....                  | 44 |
|        | ZÁVĚR.....   | 46 |
|        | SEZNAM ZKRATEK .....                                       | 47 |

|                                 |    |
|---------------------------------|----|
| SEZNAM OBRÁZKŮ .....            | 50 |
| SEZNAM TABULEK .....            | 50 |
| SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY ..... | 51 |

## ÚVOD

Ateroskleróza je chronický zánětlivý proces postihující cévní stěnu. Proces rozvoje aterosklerózy je složitý děj, který probíhá postupně od stadia endotelové dysfunkce, přes vstup monocytů do subendotelového prostoru za vzniku makrofágů, které pohlcují lipoproteiny o nízké hustotě, mění se na pěnové buňky a produkují řadu zánětlivých cytokinů. Dále dochází k transformaci hladkých svalových buněk a vzniku aterosklerotických lézí, které postupně ztrácejí svou stabilitu a vzniká stádium trvajících zánětu.

Akutní nevyřešená zánětlivá reakce vede k dalšímu poškození tkáně a chronickému zánětu. Rezoluce zánětu je zprostředkována specializovanými pro-rezolučními lipidovými mediátory odvozenými od omega-3 mastných kyselin nebo kyseliny arachidonové, příslušnými proteiny a signálními molekulami. Pro-rezoluční mediátory se rozlišují na čtyři základní skupiny, a to lipoxiny, resolviny, protektiny a maresiny. Protizánětlivé účinky lipidových pro-rezolučních mediátorů jsou realizovány prostřednictvím receptorů spřažených s G-proteiny, které jsou exprimovány na povrchu cílových buněk.

# 1 Ateroskleróza

Ateroskleróza je progresivní zánětlivé onemocnění charakterizované akumulací lipoproteinů bohatých na cholesterol ve stěně arteriální cévy a infiltrací cévních stěn makrofágy. Infiltrované makrofágy pohlcují cholesterol a způsobují zánětlivou reakci produkcí různých cytokinů a chemokinů. Infiltrované makrofágy pohlcují modifikovaný lipoprotein s nízkou hustotou (LDL) a hromadí se v aterosklerotických lézích jako pěnové buňky (Karasawa, 2017), které vylučují zánětlivé mediátory a přispívají k rozvoji plaku (Sakakura, 2013). LDL se hromadí v subendoteliálním prostoru arteriální stěny a postupně prochází oxidačními mechanismy za vzniku oxidovaného LDL (oxLDL). To indukuje zánětlivou reakci charakterizovanou nadměrnou expresí chemotaktických proteinů, jako je monocytní chemoatraktivní protein-1 (MCP-1) a adhezních molekul, jako je např. vaskulární buněčná adhezní molekula-1 (VCAM-1), E-selektin a P-selektin endoteliálními buňkami (Emini Veseli, 2017). Adhezivní molekuly podporují infiltraci monocytů z krve do arteriální stěny. Zánětlivá reakce také podporuje nábor cirkulujících monocytů a T-lymfocytů, které stimulují migraci buněk hladkého svalstva cév z *média tunica* do subendoteliálního prostoru, kde dochází k proliferaci a syntéze proteinů extracelulární matrice, které také přispívají k růst ateromu. Aterosklerotické plaky v pokročilém stádiu jsou charakterizovány velkým nekrotickým jádrem, s množstvím lipidů a aktivovanými makrofágy, hladkými svalovými buňkami a tenkou vazivovou čepičkou, která odděluje jádro plaku od krevního oběhu (Emini Veseli, 2017).

## 2 Zánět

Zánět je definován jako proces, při kterém tělo reaguje na zranění nebo infekci a je zprostředkován složkami vrozeného imunitního systému, jako jsou neutrofilové a makrofágy. Imunitní reakce mohou být aktivovány signály uvolněnými z poraněných tkání nebo buněk a přítomností patogenů. Tyto signály rozeznávají receptory pro rozpoznávání nebezpečných vzorů (PRR) a stimulují imunitní reakce podobné těm, které vyvolávají patogeny a mohou tak aktivovat vrozený imunitní systém bez přítomnosti patogenů (Matzinger, 1994). NLRP3 je receptor pro rozpoznávání nebezpečných vzorů (Guo, 2015). Receptory PRR se nacházejí v buňkách vrozeného imunitního systému, jako jsou makrofágy, neutrofilové a dendritické buňky a mohou identifikovat dva typy molekulárních vzorů. Molekulární vzory spojené s patogenem (PAMP) a molekulární vzory spojené s poškozením / nebezpečím (DAMP). Zejména NLR pyrinová doména (NLRP3) rozpoznává různé DAMP a následně v cytosolu tvoří molekulární komplex NLRP3 s inflamasomem, který vede k zánětlivým reakcím (Karasawa, 2017). Chronický zánět je hlavní příčinou progresu aterosklerózy (Galkina, 2009).

## 3 Kaspázy

Kaspázy jsou rodinou cysteinových proteáz, jejichž funkce jsou spojeny s procesem programované buněčné smrti. Enzymy štěpí převážně své substráty na C-koncové straně po aspartátu, méně často po glutamátu a ve vzácných případech po fosfoserinovém zbytku (Julien, 2017). Dnes je známo několik molekulárních mechanismů, které řídí a regulují aktivaci zánětlivých kaspáz (Van Opendenbosch, 2019).

### 3.1 Klasifikace kaspáz

Rodina lidských kaspáz je rozdělena do tří hlavních skupin podle jejich biologických vlastností (Salvesen, 2011). První skupinu tvoří prozánětlivé kaspázy, a to jednak kaspázy *C. elegans* (CED-3, CSP-1, CSP-2) a ty, které se nacházejí pouze u obratlovců (kaspáza -1, -4, -5, -11, -12, -14). Druhou skupinu tvoří efektorové kaspázy účastníci se apoptózy (kaspáza -3, -6, -7) a do třetí skupiny patří tzv. iniciátory apoptózy (kaspáza -2, -8, -9, -10) (Brabcová, 2009).

### 3.2 Funkce kaspáz

Receptory, nacházející se na povrchu buněk označované jako *Toll-like receptors* (TLRs) detekují ligandy bakteriální buněčné stěny, nebo nukleové kyseliny a jsou zapojeny v patogenetických mechanismech řady onemocnění. Druhým typem PRRs jsou tzv. *nucleotide binding and oligomerization like receptors* (NLRs), které se nacházejí pouze v cytosolu buňky. NLRs zahrnují NOD1, NOD2 a IPAF (*ICE-protease activating factor*). Oba tyto způsoby vazby mikrobiálních molekul přes povrchové TLRs nebo cytosolické NLRs vedou k aktivaci kaspázy (Brabcová, 2009). Štěpením pro-kaspázy-1 se získá aktivní kaspáza-1, proteolytický enzym, který následně štěpí prozánětlivé cytokiny IL-1 a IL-18 na jejich aktivní formy, které vyvolávají zánětlivé reakce (Baldrighi, 2017).

## 4 Inflamasomy

Inflamasom je cytoplazmatický komplex, který se tvoří v reakci na DAMP nebo PAMP a účastní se aktivace cysteinové proteázy kaspázy-1. Inflamasomy jsou pojmenovány podle konkrétního NLR, který obsahují, proto se NLRP3 inflamasomy skládají z receptoru NLRP3, adaptorové molekuly *apoptosis-associated speck-line protein containing a caspase recruitment domain* (ASC) a kaspázy-1 (Martinon, 2002). Kaspáza-1 je enzym konvertující IL-1 (ICE), a proto aktivace kaspázy-1, podporuje zpracování prekursoru IL-1 $\beta$ , silného zánětlivého cytokinu a indukuje zralý IL-1 $\beta$ , který po uvolnění způsobí zánětlivou reakci tkáně (Karasawa, 2017).

### 4.1 NLRP3 inflamasomy

NLRP3 inflamasom je molekulární komplex obsahující receptor NLRP3 a adaptorovou molekulu ASC. Tvorba tohoto komplexu vede ke štěpení vysoce prozánětlivých cytokinů pro-IL-1 $\beta$  a pro-IL-18, čímž se vytváří aktivní IL-1 a IL-18 (Moore, 2013). Inflamasomy NLRP3 se podílejí na sterilním zánětu i obraně hostitele (Guo, 2015). ASC podporuje nábor kaspázy-1 a následně kaspázu-1 aktivuje (Lu, 2014). Aktivovaná kaspáza-1 má prozánětlivé účinky a také štěpí gasdermin D (GSDMD) k indukci pyroptózy, což je zánětlivá programovaná smrt buněk doprovázená zvýšenou permeabilitou plazmatické membrány. IL-1 $\beta$  nemá signální sekvenci pro exocytózu, a proto je pro uvolnění IL-1 $\beta$  nezbytná permeabilizace membrány zprostředkovaná pyroptózou (Rajamäki, 2010). Uvolňování IL-1 $\beta$  je indukováno dvoustupňovou regulací. Transkripční regulace IL-1 $\beta$  (signál 1) je zprostředkována molekulárním vzorcem PRR nebo cytokinovými receptory včetně TLR a IL-1 receptorů (IL-1R). Nahromaděný cytosolický pro-IL-1 $\beta$  je v cytosolu rychle zpracován kaspázou-1 (signál 2) (Juliana, 2012).

### 4.2 Úloha NLRP3 inflamasomů při ateroskleróze

Mezi znaky pokročilých aterosklerotických lézí patří ukládání krystalů cholesterolu v časném stadiu aterosklerotické léze a aktivace inflamasomu NLRP3 prostřednictvím lysozomální destabilizace. OxLDL v aterosklerotických lézích, indukuje krystalizaci cholesterolu a poskytuje primární signály k indukci exprese NLRP3 a pro-IL-1 $\beta$  (Duewell, 2010). OxLDL je tedy dostačující k poskytnutí signálů a k vyvolání uvolňování IL-1 $\beta$  (Usui, 2012). NLRP3 inflamasomy jsou nezbytné pro zahájení vaskulárního zánětu během progresu aterosklerózy (Karasawa, 2017), a proto jsou regulační mechanismy NLRP3 inflamasomů považovány za potenciální cíle při léčbě aterosklerózy (Karasawa, 2017).

### **4.3 Regulační mechanismy inflamasomů NLRP3**

Jak již bylo zmíněno, NLRP3 inflamasomy mohou být zapojeny v mnoha zánětlivých onemocněních, včetně aterosklerózy. Možné mechanismy jsou následující: 1) modifikace složek inflamasomu včetně fosforylace a ubikvitinace, 2) modulace sestavy inflamasomu NLRP3, 3) ovlivnění drah aktivace inflamasomu NLRP3 a 4) destrukce komplexu inflamasomu NLRP3. Modifikace NLRP3 je zásadní pro sestavu inflamasomu. Aktivační signál poskytovaný TLR nebo IL-1R podporuje deubikvitinaci NLRP3, což umožňuje sestavování inflamasomu NLRP3. Proteinkináza A inhibuje NLRP3 prostřednictvím fosforylace na Ser 291 a podporuje následnou ubikvitinaci (Karasawa, 2017). Také reaktivní formy kyslíku mohou inhibovat aktivaci NLRP3 inflamasomu (Zhou, 2011). Aktivace biogeneze lysozomu může chránit před aktivací inflamasomu a nadměrná exprese rekombinantního proteinu transkripčního faktoru (TFEB), která reguluje geny související s lysozomy a autofagií, inhibuje aktivaci inflamasomu NLRP3 a zmírňuje progresi aterosklerózy (Emanuel, 2014).

### **4.4 Inhibitory NLRP3**

Již zmíněná zvýšená sekrece IL-1 $\beta$  inflamasomem NLRP3 je spojena s progresí aterosklerotického plaku, a proto bylo popsáno několik inhibitorů inflamasomu NLRP3, které snižují rozvoj aterosklerózy (

Tabulka 1). Některé inhibitory se přímo zaměřují na protein NLRP3, jiné zase na složky a produkty zánětlivého procesu. Cílení na protein NLRP3 je z hlediska omezení destrukce tkáně výhodnější, protože dokáže bránit imunosupresivním účinkům (Zahid, 2019).



Tabulka 1 Mechanismy účinků inhibitorů NLRP3 inflammasomu (Zahid, 2019).

| Potenciální mechanismy NLRP3 inhibitorů inflammasomu. |              |   |
|---|--------------|---|
| Inhibitor   |              | Mechanismy zahrnující inhibici NLRP3 inflammasomu   |
| NLRP3 inflammasom                                     |              |   |
| Inhibitor s malou molekulou                           | MCC950       | Blokování oligomerizace proteinu spojeného s apoptózou (ASC), inhibice kanonického a nekanonického NLRP3 inflammasomu |
| BHB   |              | Blokování oligomerace ASC, inhibice K <sup>+</sup>  |
| Interferon typu I (IFN) a IFN-β                       |              | Indukce fosforylace STAT1, transkripčního faktoru, indukce produkce IL-10   |
| Induktor autofagie                                    | Resveratrol  | Vyvolání procesu autofagie, potlačení poškození mitochondrií  |
| Arglabin  |              | Vyvolání procesu autofagie, snížení hladiny cholesterolu  |
| Agonista CB2R   |              | Vyvolání procesu autofagie, inhibice aktivačního kroku aktivace NLRP3 inflammasomu                                    |
| MicroRNA  | MicroRNA-223 | Potlačování exprese proteinu NLRP3  |

## 4.5 Signalizace TLR

Účast signálních drah TLR na progresi aterosklerózy je podporována studii na myších, ve kterých delece TLR2, TLR4 nebo adaptorových proteinů používaných těmito TLR, včetně IL-1R-asociované kinázy 4 (IRAK4), poskytuje ochranu před aterosklerózou. Endogenní ligandy, které se kumulují během hypercholesterolemie v placích, mohou spouštět detekční dráhy v makrofázích. Oxidované LDL mohou být ligandy jak pro *scavenger* receptory, tak pro TLR, přičemž míra oxidace ovlivňuje jejich rozpoznávání těmito receptory. Vlivem oxidace LDL dochází k přeskupení cytoskeletu a produkci IL-6 a IL-10. Středně oxidovaný LDL rozpoznávaný CD36 na povrchu buněk spouští signalizaci prostřednictvím heterodimeru TLR4 a TLR6, což vede k aktivaci nukleárního faktoru- $\kappa\beta$  (NF- $\kappa\beta$ ) a expresi chemokinů, které podporují nábor monocytů do aterosklerotických lézí. Oxidované fosfolipidy a nasycené mastné kyseliny indukují expresi CD36 a TLR2, což podporuje apoptózu v makrofázích a zvyšuje stres endoplazmatického retikula. Signální dráhy iniciované těmito ligandy mohou vést k trvalé aktivaci různých TLR, včetně TLR4 a TLR3. Tyto cesty tedy vedou ke spuštění a udržení zánětlivého procesu vyvolaného TLR v aterosklerotických placích (Moore, 2013).

## 5 Makrofágy

Makrofágy jsou hlavním zdrojem pěnových buněk, které jsou charakteristickými znaky aterosklerotických lézí (Farese, 2009). Pocházejí hlavně z cirkulujících monocytů (CD14 +, CD16 -), které putují do rostoucích aterosklerotických lézí (Bäck, 2019). Pro zahájení a rozvoj aterosklerózy jsou důležité tři typy buněk: makrofágy, buňky hladkého svalstva a cévní endoteliální buňky (Shao, 2016).

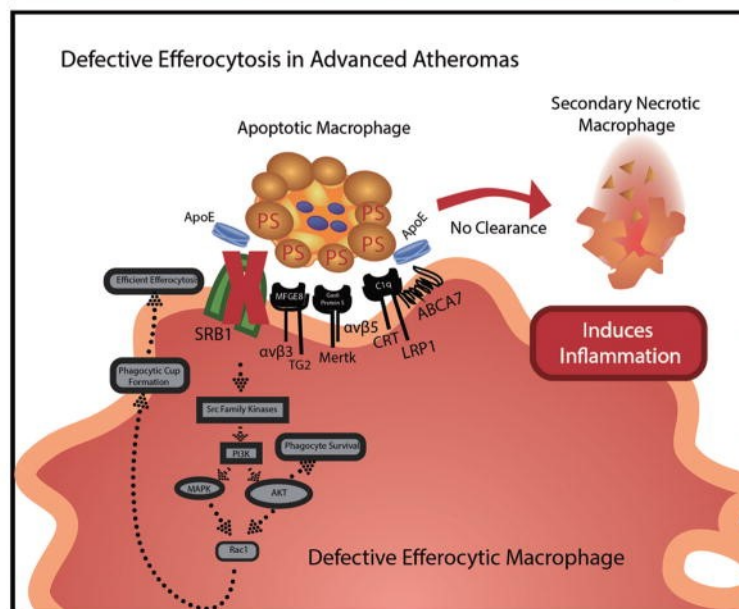
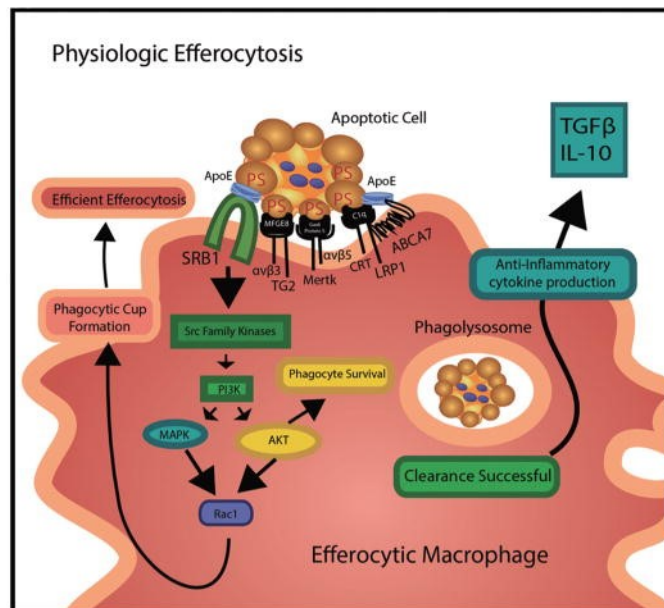
### 5.1 Makrofágy a ateroskleróza

Makrofágy hrají klíčovou roli ve všech stádiích aterosklerózy (Tabas, 2016). Po pohlcení oxidovaných lipoproteinů s nízkou hustotou (oxLDL), nebo jiných modifikovaných lipoproteinů se přemění na pěnové buňky (Chen, 2010). Aterosklerotické plaky se vyvíjejí od stádia lipidových proužků přes ateromatózní plak až ke komplikovaným ateromatózním lézím. Makrofágy vylučují různé typy zánětlivých cytokinů a katabolických enzymů (Chen, 2010). Tyto zánětlivé cytokiny, např. IL-1, IL-6, IL-12 mohou vést k dalším zánětlivým reakcím v aterosklerotických lézích. Katabolické enzymy produkované makrofágy, zvyšují nestabilitu plaků a poškozují vazivovou čepičku, která odděluje plak od krevního oběhu (Shao, 2016).

## 5.2 Apoptóza a eferocytóza makrofágů

Eferocytóza, nebo fagocytóza apoptotických buněk, je důležitým procesem omezujícím progresi plaku a zánětu. Eferocytóza spouští protizánětlivou reakci v makrofázích snížením tvorby prozánětlivých a zvýšením produkce protizánětlivých cytokinů. Zachycení apoptotických buněk vede k zvýšení obsahu intracelulárních lipidů, proteinů, nukleotidů a sacharidů, se kterými se musí makrofágy následně vypořádat. Akumulace oxLDL, tvorba nefunkčních lipoproteinů s vysokou hustotou (HDL) a reaktivních kyslíkových radikálů (ROS) přispívají k tvorbě plaků (Linton, 2016).

Fyziologická makrofágová eferocytóza v aterosklerotických lézích (Obrázek 1), zahrnuje soubor molekul, které jsou přítomné na apoptotických buňkách např. GAS6, protein S a laktadherin (MFGE8) a receptory na buněčném povrchu na eferocytech, jako jsou MERTK, proteiny T-lymfocytového imunoglobulinového mucinového receptoru (TIM) a receptory související s LDL, protein 1 (LRP1) a enzymy podílející se na fagolysozomální degradaci apoptotických buněk (ATPázy a DNáza II) (Bäck, 2019). Eferocytóza prostřednictvím SR-BI a dalších receptorů stimuluje protizánětlivou signalizaci a podporuje přežití fagocytů (Linton, 2016).



Obrázek 1 Eferocytóza v makrofázích za fyziologického stavu a v aterosklerotických lézích (Bäck, 2019).

### 5.3 Defektní eferocytóza

Jelikož apoptotické buňky a oxidované fosfolipidy v makrofázích mají podobné epitopy, mohou protilátky, které rozpoznávají oxidované fosfolipidy, také zabránit eferocytóze (Chang, 1999). Kromě toho oxLDL zvyšují expresi a signalizaci TLR4, což způsobuje zvýšenou sekreci prozánětlivých cytokinů TNF a IL-1p a snižují produkci protizánětlivých cytokinů TGF-β, IL-10 (Bae, 2009). Pokud dojde k poruše eferocytózy, například štěpením receptoru MERTK proteázou ADAM17 na makrofágu, nevhodnou expresí CD47 na apoptotických buňkách, která vede k interakci CD47 se signálním regulačním proteinem  $\alpha$  (SIRP $\alpha$ ), nebo snížením

kalretikulínu na apoptotických buňkách. CD47 je přítomen na všech živých buňkách a je signálem „nejez mě“ pro eferocyty. CD47 signalizuje prostřednictvím fagocytového proteinového receptoru SIRP, čímž brání pohlcení. Exprese CD47 se zvyšuje s postupujícím aterosklerotickým poškozením. Molekula CD47 je lokalizována na umírajících makrofázích a buňkách hladkého svalstva. (Kojima, 2016).

U časně aterosklerózy jsou lipoproteiny obsahující apoB kumulovány v subendotelu cév a stimulují silnou zánětlivou reakci, při které dochází k uvolňování chemokinů a náboru leukocytů. S postupující aterogenezí se tato zánětlivá reakce nedokáže správně ukončit a dochází k dalšímu náboru leukocytů. Hlavním buněčným typem při vývoji aterosklerotických plaků jsou makrofágy, avšak schopnost těchto buněk vykonávat eferocytózu je během progresu aterosklerózy narušena. Neschopnost odstranit odumřelé buňky v aterosklerotické lézi vede k hromadění dalších nekrotických buněk a tvorbě vysoce zánětlivého nekrotického jádra. Nekrotické jádro je příčinou zranitelnosti aterosklerotických plaků, díky němu jsou léze náchylné k prasknutí a trombóze. Nerovnováha mezi protizánětlivými a pro-rezolučními účinky a akumulace nekrotických buněk, vede k defektní eferocytóze a tvorbě ateromů (Bäck, 2019).

### **5.3.1 Tyrosinkinázový receptor**

MERTK je apoptotický tyrosinkinázový receptor na buněčném povrchu, který váže fosfatidylserin, GAS6 nebo protein S a řídí adhezi apoptotických buněk. Zvýšená produkce zánětlivých cytokinů snižuje aktivaci LXR receptoru, což podporuje sníženou expresi protoonkogenu tyrosin-proteinkinázy MERTK (Linton, 2016) zprostředkovanou metaloproteázou 17 (ADAM17). Štěpený produkt MER zvyšuje postup aterosklerotické léze a může soutěžit s MERTK o vazbu s GAS6 a proteinu S a tím narušovat eferocytózu v lézi (Bäck, 2019).

### **5.3.2 Receptor pro LDL související s proteinem 1**

Dalším apoptotickým buněčným receptorem je receptor pro LDL související s proteinem 1 (LRP1), který může být deaktivován proteolytickým štěpením zprostředkovaným ADAM17. Nefunkčnost LRP1 přispívá k progresi aterosklerózy a zvýšení velikosti nekrotického jádra (Bäck, 2019).

### **5.3.3 Proteiny rodiny transmembránových imunoglobulinů a mucinových domén**

Proteiny rodiny transmembránových imunoglobulinů a mucinových domén (TIM) jsou transmembránové proteiny typu I. Protilátky proti TIM1 nebo TIM4 podporují progresi lézí, což vede k akumulaci sekundárně nekrotických buněk a syntéze prozánětlivých cytokinů (Bäck, 2019).

### **5.4 Fenotypy makrofágů u aterosklerózy**

V arteriální intimě se nachází makrofágy s různými fenotypy v závislosti na přítomnosti růstových faktorů, chemokinů a cytokinů v různých kombinacích a poměrech (Bäck, 2019). V cévní stěně jsou široce exprimovány dva faktory stimulující kolonie, faktor stimulující kolonie granulocytů a makrofágů (GM-CSF) a faktor stimulující kolonie makrofágů (M-CSF). Tyto faktory regulují nejen diferenciaci monocytů na makrofágy, ale také počet a funkci zralých makrofágů. GM-CSF polarizuje makrofágy na prozánětlivý fenotyp podobný M1, zatímco M-CSF polarizuje makrofágy na protizánětlivý fenotyp podobný M2. Protizánětlivé makrofágy mohou být vystaveny buď klasické aktivaci s IFN $\gamma$  a LPS pro polarizaci na prozánětlivý fenotyp, nebo alternativní aktivaci s IL-4 pro polarizaci na protizánětlivý fenotyp (Bäck, 2019).

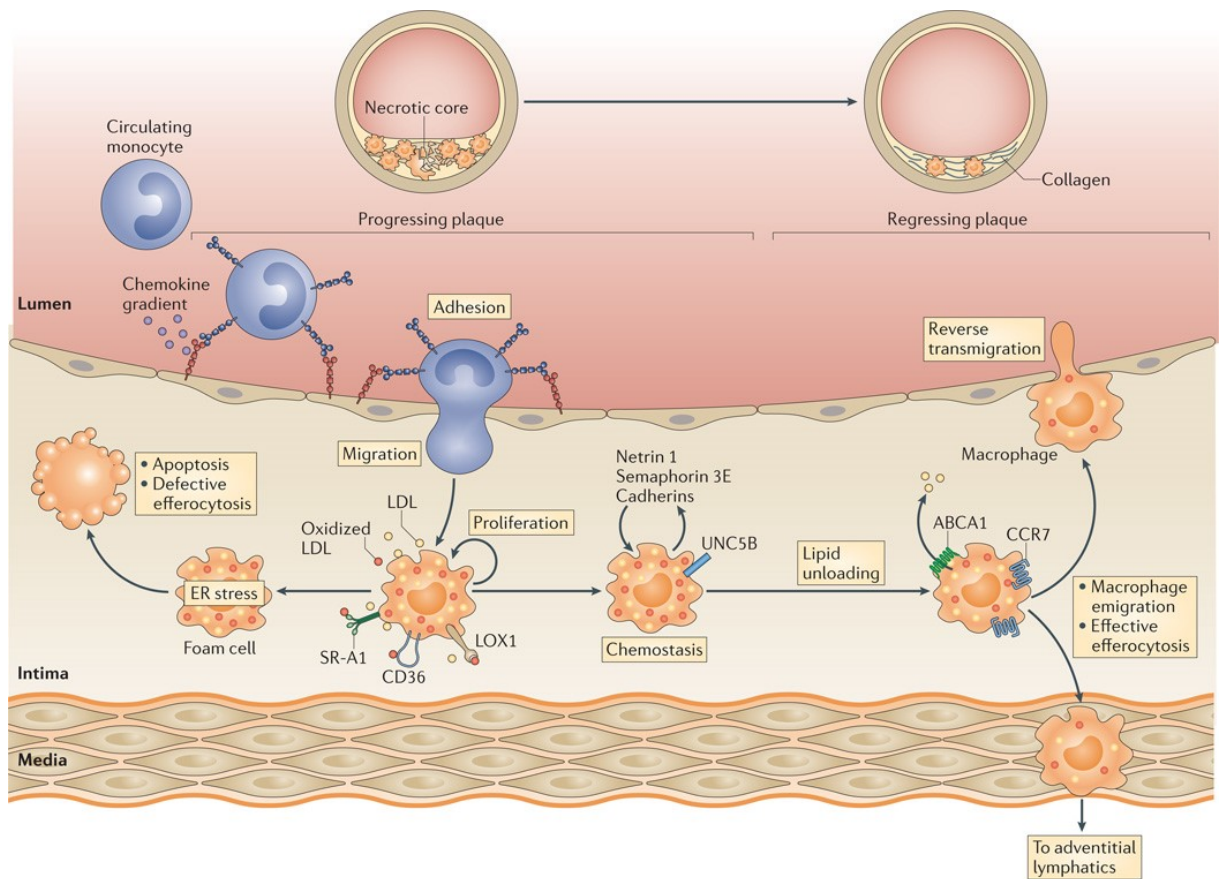
Označování makrofágů M1 a M2 je značným zjednodušením a vedlo k pochopení rolí fenotypu makrofágů v aterogenezi. Tyto makrofágy mají různé molekulární markery, protože jsou primárně odvozeny z různých podskupin krevních monocytů. M1 makrofágy jsou odvozeny ze zánětlivých Ly6C<sup>hi</sup> monocytů. Protizánětlivé makrofágy M2 jsou odvozeny z podskupin monocytů Ly6C<sup>lo</sup>, tento typ makrofágů může také pocházet z podskupin Ly6C<sup>hi</sup>. M1 makrofágy s MCP-1, IL-12, IL-23 a TNF jsou rozhodující pro destrukci tkáně. Naproti tomu protizánětlivé makrofágy M2 charakterizované arginázou I, chemokiny M2 a IL-10 (Fisher, 2016) mají fenotyp mnohem dynamičtější a složitější. Podléhají přeměnám během různých stádií aterosklerózy, která je ovlivněná rozsahem absorpce a retence lipidů a také přítomností akceptorů pro odstranění cholesterolu, včetně HDL a apoE. Různé fenotypy ovlivňují schopnost makrofágů pohlcovat oxLDL, produkovat velké množství zánětlivých nebo protizánětlivých molekul pro remodelaci a opravu tkání, a také ovlivňují jejich přežití a schopnost provádět eferocytózu (Linton, 2016).

V souvislosti s progresí aterosklerotických lézí mohou být zpočátku méně zánětlivé makrofágové pěnové buňky nakonec silně prozánětlivé, pokud se stanou nekrotickými a uvolní svůj obsah do extracelulárního prostoru plaku. Fenotypová heterogenita makrofágových

podtypů umožňuje makrofágům mít různé kombinace patogenních i ochranných funkcí. Kromě toho mají jednotlivé makrofágy fenotypový přepínač, který ovlivňuje jejich funkční vlastnosti (Bäck, 2019).

## **5.5 Cesty regulující retenci a migraci makrofágů v placích**

K migraci makrofágů do zánětlivého místa dochází již v časných aterosklerotických placích, avšak rychlost pohybu makrofágů klesá s progresí aterosklerózy (Obrázek 2). Pěnové buňky exprimují retenční molekuly (jako je netrin 1 a jeho receptor Unc5b, semaforin 3E a kadheriny), které podporují chemotázu makrofágů. Nahromaděné makrofágy v zánětlivém prostředí podporují stres endoplazmatického retikula, který vede k apoptóze. Plaková regrese je charakterizována zvýšenou regulací CC-chemokinového receptoru 7 (CCR7) na myeloidních buňkách a snížením exprese retenčního faktoru (Moore, 2013).



Nature Reviews | Immunology

Obrázek 2 Cesty regulující retenci a migraci makrofágů v placích (Moore, 2013).



## 6 Rezoluce zánětu

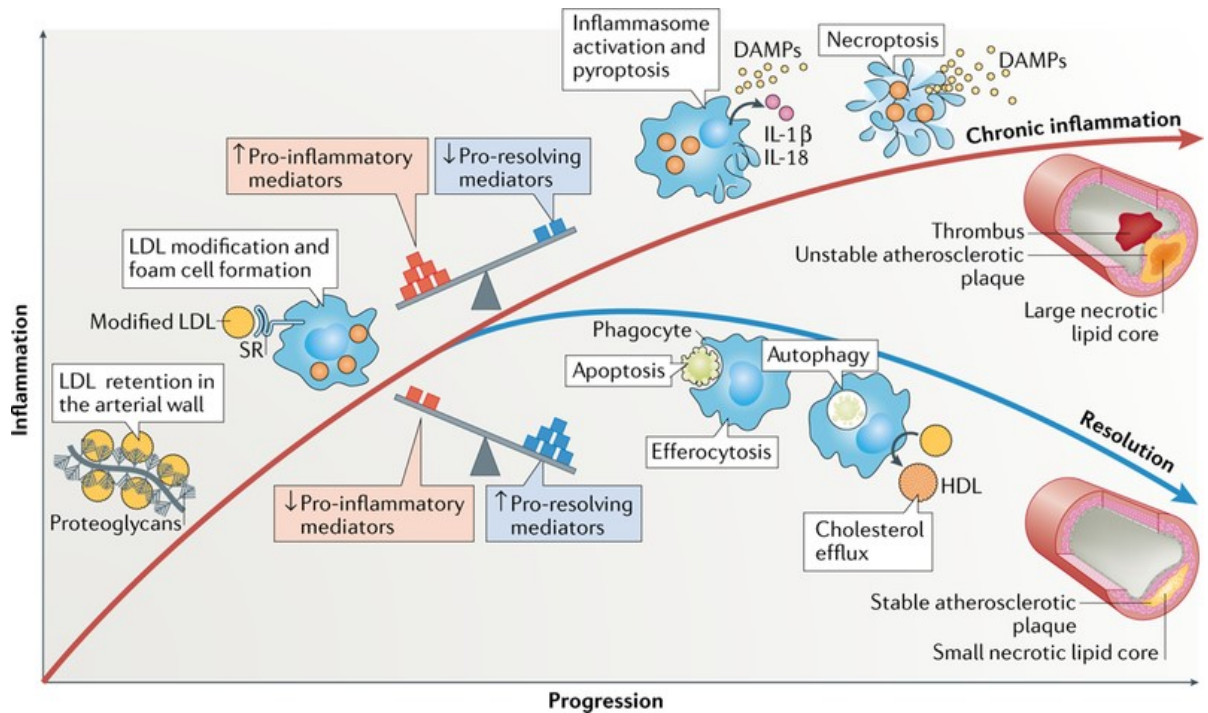
Během rezoluce zánětu dochází k lokálnímu uvolňování a aktivaci mediátorů (např. komplementu, cytokinů, lipidů). Histiocyty, stromální buňky a zvýšená regulace buněčných adhezivních molekul na endotelu společně usnadňují extravaskulární hromadění leukocytů, projevující se zarudnutím, otoky a bolestí. Rezoluce je aktivním procesem, který již není považován za pasivní událost, při které odpověď jednoduše odezní. Kritickým požadavkem na útlum zánětlivé reakce je v první řadě eliminace škodlivých látek, které ji iniciovaly. Snížením zánětlivých stimulů se sníží syntéza prozánětlivých mediátorů a povede k jejich katabolismu. To zastaví další nábor leukocytů a tvorbu otoků. Jedná se o časnou fázi rezoluce akutního zánětu, jehož výsledek signalizuje další fázi buněčné *clearance* (Bennett, 2017).

Eliminace nežádoucího stimulu vede k další fázi katabolismu prozánětlivých mediátorů, ve které se hladiny cytokinů, chemokinů, eikosanoidů a molekul buněčné adheze vrací do stadia před zánětem. Receptory chemokinů, jako je D6, nejsou schopny iniciovat klasické signální dráhy po navázání ligandu a tím působí jako prozánětlivé signály a vykazují nadměrnou koncentraci chemokinů, což vede k zvýšení zánětlivého stavu. Pokud jsou endogenní systémy, které usnadňují prozánětlivé vylučování mediátorů dysregulovány, může docházet k chronickému zánětu. Inhibice granulocytů, katabolismus prozánětlivých mediátorů a eferocytóza společně vedou k rezoluci zánětu bez nadměrného poškození tkáně (Bennett, 2017).

### 6.1 Rezoluce versus chronický zánět u aterosklerózy

Pro-zánětlivé signály jsou aktivovány okamžitým a časným způsobem souběžně s protizánětlivými signály, které slouží ke zmírnění rozsahu fáze časného nástupu akutního zánětu, přičemž příliv neutrofilů je ukazatelem závažnosti zánětu. Pro-zánětlivé mediátory generované v zanícené tkáni, řídí akutní zánět, ale zároveň dochází i k produkci endogenních mediátorů, které vyvažují tyto prozánětlivé události (Bennett, 2017). Rovnováha pro-zánětlivých a pro-rezolučních procesů řídí rezoluci zánětu v aterosklerotických lézích. Pokud je rovnováha mezi pro-zánětlivými a pro-rezolučními mediátory nakloněna směrem k zánětu, mechanismy rezoluce selhávají. Nestabilní aterosklerotické plaky mohou nakonec vést k prasknutí plaku a lokální okluzi arteriálním trombem. Naopak, pokud je rovnováha mezi mediátory nakloněna směrem k mediátorům podporujícím rezoluci, je upřednostňována

apoptóza a autofagie spojená s buněčnou smrtí, efluxem cholesterolu z lézí a eferocytóza mrtvých buněk může vést k rezoluci zánětu (Obrázek 3Obrázek 3) (Bäck, 2019).



Obrázek 3 Rezoluce versus chronický zánět u aterosklerózy (Bäck, 2019)).

## 6.2 Možnosti cílené rezoluce

Proces lokálního cílení na nábor monocytů je při léčbě makrofágy vhodný, ale nežádoucí při systémových procesech. Například blokování náboru monocytů pomocí CCR2 může být při progresi aterosklerózy účinné, ale posun fenotypové rovnováhy k fenotypu makrofágů M2 během regrese aterosklerózy vyžaduje nábor monocytů LY6C hi prostřednictvím CCR2. Inhibice CCR2 tedy může zhoršit regresi aterosklerózy. Problém může nastat i při cílení na jiné chemokinové receptory, jako jsou CX3, CR1 a CCR5, které společně s CCR2 kontrolují více než 90 % vstupu monocytů do plaků (Moore, 2013).

V časném stádiu plaku, kde je účinná eferocytóza, by bylo výhodnější zvýšit apoptózu. U složitějších plaků je již eferocytóza narušená, a proto by zvyšování apoptózy vedlo ke zvýšenému uvolňování obsahu lipidů z makrofágů a tkáňového faktoru, které by zvětšovaly nekrotické jádro a zvyšovaly jeho trombogenicitu. Současné úsilí je zaměřeno na udržení úrovně eferocytózy během regrese plaku pomocí látek, jako jsou IL-10 nebo LXR, které snižují zánět, nebo podporují eflux cholesterolu (Moore, 2013).

Další možností cílené rezoluce je polarizace makrofágů na fenotyp M2, inhibicí polarizace makrofágů M1. Zvyšování M2 fenotypu v placích je tedy prospěšné při regresi aterosklerózy (Moore, 2013).

## 7 Polynenasycené mastné kyseliny

Polynenasycené mastné kyseliny (PUFA) jsou mastné kyseliny, které mají ve svém uhlíkovém řetězci dvě nebo více dvojných vazeb. Omega-3 ( $\omega$ -3) a omega-6 ( $\omega$ -6) PUFA jsou biologicky nejvýznamnější PUFA, které mají významnou roli v kardiovaskulárních, zánětlivých a metabolických onemocněních (Simonetto, 2019). Protizánětlivé  $\omega$ -3 PUFA soutěží s  $\omega$ -6 PUFA a vytěsňují kyselinu arachidonovou v membránových fosfolipidech, což snižuje produkci prozánětlivých eikosanoidů (Simonetto, 2019). PUFA jsou považovány za silné modulátory mechanismů regulujících nástup, prodloužení a rezoluci zánětu (Molfino, 2017).

### 7.1 Kyselina eikosapentaenová

Kyselina eikosapentaenová (EPA) patří mezi  $\omega$ -3 PUFA. Metabolismus EPA vede k protizánětlivým a antitrombotickým lipidovým mediátorům. EPA chrání před oxidačním poškozením, zlepšuje vaskulární a endoteliální funkci, inhibuje pohyb monocytů do časných lézí (Brinton, 2017) a chemotaxi leukocytů. Dále snižuje expresi adhezních molekul a tvorbu zánětlivých cytokinů působením specializovaných mediátorů (SPM) (Molfino, 2017). EPA moduluje zánět, podporuje antioxidační a protizánětlivé funkce lipoproteinů s vysokou hustotou (HDL), také podporuje odstranění cholesterolu zprostředkované HDL z makrofágů, snižuje tvorbu aterosklerotických plaků, progresi a náchylnost k prasknutí plaků a také snižuje tvorbu trombu (Brinton, 2017).

### 7.2 Kyselina dokosahexaenová

Kyselina dokosahexaenová (DHA) je  $\omega$ -3 polynenasycená mastná kyselina. DHA inhibuje rozvoj zánětu v endoteliálních buňkách a snižuje expresi adhezního faktoru vyvolaného lipopolysacharidem tím, že potlačuje TLR. DHA má antitrombotické, antiaterogenní a vazoprotektivní účinky. Antiaterogenní aktivita snižuje plazmatické triglyceridy, inhibuje migraci a růst buněk hladkého svalstva cév a inhibuje produkci cytokinů a adhezních molekul. DHA inhibuje expresi genů indukovanou TNF- $\alpha$  související s endoteliální dysfunkcí, včetně LOX-1. DHA dále inhibuje indukci zánětu řízením přenosu signálu buněk a změnou genové exprese v buňkách. Může inhibovat expresi vaskulární buněčné adhezní molekuly-1 (VCAM-1) a tlumit signální dráhy NF- $\kappa$ B (Yamagata, 2017).

### 7.3 Kyselina linolová

Kyselina linolová (LA) je hlavní  $\omega$ -6 polynenasycená mastná kyselina. LA zvyšuje přenos LDL do stěny cév, což je zásadním krokem v rozvoji aterosklerózy. Přeměnou LA na kyselinu arachidonovou dochází k vyšší produkci prozánětlivých eikosanoidů. Snížené hladiny LA mají za následek snížení hladin kyseliny arachidonové ve tkáních, snížení syntézy eikosanoidů a prevenci produkce oxidovaných metabolitů LA (Simonetto, 2019).

### 7.4 Kyselina arachidonová

Kyselina arachidonová (AA) je  $\omega$ -6 polynenasycená mastná kyselina (Hanna, 2018). AA je hlavní složkou buněčných membrán, kde je součástí fosfolipidů. AA je z fosfolipidů uvolněná fosfolipázou A2 (PLA<sub>2</sub>) a fosfolipázou C (PLC) jako volná arachidonová kyselina (Wang, 2019). Volná AA může následně difundovat do dalších buněk, znovu se začlenit do fosfolipidů nebo metabolizovat (Hanna, 2018). Volná AA je prekurzorem prozánětlivých bioaktivních mediátorů. Prostřednictvím dráhy cyklooxygenázy (COX) může být AA metabolizována na prostaglandiny (PG) a tromboxany (TX). AA může být také přeměněna lipoxygenázovou (LOX) cestou na leukotrieny (LT) a lipoxiny (LX). AA také generuje epoxyeikosatrienové kyseliny (EET) nebo hydroxyeikosatetraenové kyseliny (HETE) cestou cytochromu P450 (CYP450). Společně jsou tyto metabolity AA označovány jako eikosanoidy (Wang, 2019).

## 8 Eikosanoidy

Eikosanoidy jsou bioaktivní signalizační lipidy odvozené z kyseliny arachidonové souvisejících s PUFA (Dennis, 2015). Eikosanoidy jsou přítomny téměř ve všech tkáních a ovlivňují různé funkce organismu včetně obranné zánětlivé reakce. Eikosanoidy se dělí na klasické, kam patří prostanoidy (prostaglandiny, prostacykliny, tromboxany) a leukotrieny a non-klasické (resolviny, lipoxiny, maresiny a další) (Pavelka, 2010). Eikosanoidy indukují vstup cytokinů, chemokinů a složek komplementu do tkáně, kde zahajují obrannou reakci (Basil, 2016).

## 9 Prostanoidy

Prostanoidy jsou syntetizovány v buňkách většiny tkání, včetně krevních cév a moduluje mnoho biologických procesů, jako je tonus hladkého svalstva, vaskulární permeabilitu, horečku a agregaci krevních destiček. Prostanoidy mají prozánětlivé vlastnosti, ale také imunopresivní účinky prostřednictvím zvýšené regulace intracelulárního cAMP. PGE<sub>2</sub>

a PGI<sub>2</sub> inhibují produkci prozánětlivých mediátorů, ale na druhou stranu zvyšují produkci IL-10 a IL-6. Během časně fáze zánětu PGE<sub>2</sub> nepřímo vede k pro-rezolučním účinkům zahájením transkripce enzymů potřebných pro generování SPMs a dalších tříd bioaktivních lipidů, které jsou silnými mediátory zánětu (Bennett, 2017).

## 9.1 Syntéza prostanoidů

Prostanoidy se generují z 20 uhlíkových  $\omega$ -6 PUFA. Prvním krokem v syntéze prostanoidů je uvolnění kyseliny arachidonové z membrány fosfolipázou A<sub>2</sub> (Obrázek 4) (Mitchell, 2019). Prostřednictvím lipidových pro-rezolučních mediátorů přechází produkce kyseliny arachidonové z produkce leukotrienů na produkci lipoxinů (Basil, 2016).

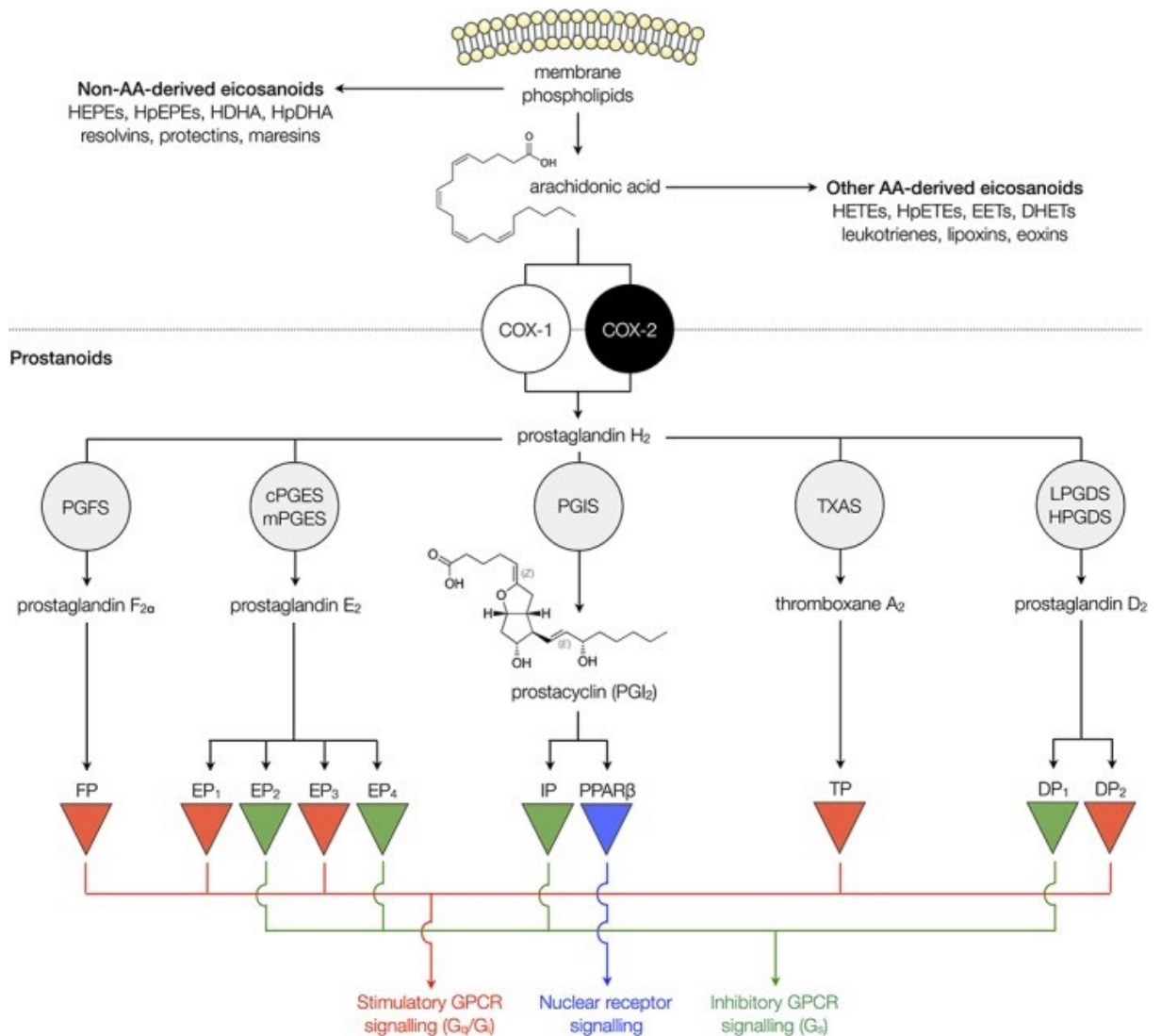
Druhým krokem v syntéze prostanoidů je oxidace volné kyseliny arachidonové katalyzované cyklooxygenázou (COX), což je závislé na dostupnosti kyseliny arachidonové. Cyklooxygenáza je enzym přítomný ve dvou izoformách, COX-1 a COX-2. Zatímco COX-1 je konstitutivně exprimována ve většině buněk a tkání, COX-2 je rychle indukována, když jsou buňky vystaveny zánětlivým podnětům. COX-1 se podílí na buněčných funkcích nezbytných pro normální fyziologickou aktivitu, zatímco COX-2 působí primárně v místech zánětu (Bennett, 2017).

K přeměně kyseliny arachidonové na prostanoidy dochází oxidací na PGG<sub>2</sub> a následnou peroxidací a tvorbou PGH<sub>2</sub>. PGH<sub>2</sub> je následně přeměněn pomocí syntázy a isomerázy na celou řadu prostanoidů (Mitchell, 2019). Prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) a prostaglandin I<sub>2</sub> (PGI<sub>2</sub>) ze stromálních buněk nebo buněk myeloidní linie řídí migraci myofibroblastů a diferenciaci epiteliálních buněk (Esser-von Bieren, 2019) a regulují průtok krve, zatímco leukotrien C<sub>4</sub> (LTC<sub>4</sub>) a leukotrien D<sub>4</sub> (LTD<sub>4</sub>) regulují vaskulární permeabilitu (Nathan, 2002). Prostanoidy mají velmi různorodou roli v bolesti, zánětu, kontrolují hemostázu a cévní tonus. Žírné buňky aktivované během traumatu exprimují prostaglandin D syntázy a tím uvolňují PGD<sub>2</sub> (Esser-von Bieren, 2019).

Lipoxigenáza (LOX) je enzym nacházející se v leukocytech, krevních destičkách a endoteliálních buňkách, který se účastní metabolismu kyseliny arachidonové (Bennett, 2017). Kyselina arachidonová může být metabolizována pomocí enzymů 5-LOX, což vede ke vzniku hydroxyeikosatetraenových kyselin (HETE), leukotrienů nebo lipoxinů (Howitt, 2016). Během poranění jsou indukovány leukotrieny (LT), což vede ke zvýšení hladiny jak LTB<sub>4</sub>, tak i cysLT v poškozených tkáních. Kyselina arachidonová může být dále metabolizována enzymy 12 a 15-LOX (Esser-von Bieren, 2019).

Aktivace dráhy 12/15-LOX může poskytovat ochranné vaskulární účinky prostřednictvím PPAR $\gamma$  receptorů se zvýšenou produkcí oxidu dusnatého (NO) a snížením IL-12p40 (Satish, 2018). Delece 12/15-LOX podporuje aterosklerózu, přičemž je pozorována zvýšená exprese 15-LOX-2 (izoforma 15-LOX) v diferenciaci lidských monocytů na makrofágy (Satish, 2018). 5-LOX může být regulována pomocí LTA4 hydrolázy. Sekvenční působení 5-LOX ve spojení s 12/15-LOX vytváří protizánětlivé lipoxiny, typu SPM. Nejaderný 5-LOX je lokalizovaný blízko 12/15-LOX, což usnadňuje přeměnu kyseliny arachidonové na SPM prostřednictvím receptoru pro eferocytózu MerTK (Satish, 2018).

Další skupinou enzymů, které se podílejí na metabolismu  $\omega$ -3 a  $\omega$ -6 PUFA v nastavení opravy tkání, je cytochrom P450 (CYP). CYPs, převádí kyselinu arachidonovou na epoxydokosapentaenové kyseliny (EET) (Panigrahy, 2013) nebo hydroxyeikosatetraenové kyseliny (HETE), které jsou protizánětlivé a jsou tak zapojeny do oprav tkání, zatímco diHETE, které mohou být tvořeny rozpustnou epoxidovou hydrolázou sEH jsou považovány za prozánětlivé nebo neaktivní (Bruen, 2019). Poškození tkáně má tedy za následek uvolnění více eikosanoidů s různými rolami v opravě tkání a zánětu (Panigrahy, 2013).



Obrázek 4 Eikosanoidní a prostanoidní syntéza (Mitchell, 2019).

## 10 Specializované pro-rezoluční mediátory

Specializované pro-rezoluční lipidové mediátory (SPM) jsou schopné tlumit zánět bez nežádoucí imunitní odpovědi (Chattopadhyay, 2017). Nekontrolovaný zánět, a tedy selhání rezoluce zánětu, hraje důležitou roli ve vývoji kardiovaskulárních onemocnění (Fredman, 2017). SPM mají klíčovou protizánětlivou funkci (Serhan, 2014). Prekurzory SPM jsou odvozené od  $\omega$ -6 a  $\omega$ -3 PUFA (Satish, 2018). SPM se dělí na čtyři hlavní třídy aktivátorů spřažených s G-proteinem, které zahrnují lipoxiny (LX), resolviny (Rv), protektiny (P) a maresiny (Mar), z nichž každý tlumí zánět a usnadňuje opravu tkáně (Satish, 2018). Dále mezi SPM patří proteinové mediátory, jako je Annexin A1 a plynné mediátory (Fredman, 2017). SPM aktivují specifické buněčné receptory, které zmírňují produkci prozánětlivých mediátorů,



snižují nábor neutrofilů a podporují odstraňování mrtvých buněk makrofágy. SPM podporují obnovení vaskulární integrity, regeneraci poškozených tkání a zprostředkovávají úlevu od horečky a zánětlivé bolesti (Basil, 2016).

## **10.1 Annexin A1**

Annexin A1 je proteinový endogenní pro-rezoluční mediátor zánětu. Hladiny annexinu A1 jsou vysoké u asymptomatických plaků ve srovnání se symptomatickými plakami karotické tepny. Annexin A1 snižuje aterogenezi a reguluje klíčové chemokiny podílející se na migraci leukocytů do plaků (Fredman, 2017). Annexin A1 zahajuje homodimerizaci ALX / FPR2, což vede k rezoluci a zvýšení IL-10. N-koncový peptid annexinu A1 (Ac2-26) má protizánětlivé a pro-rezoluční vlastnosti, iniciuje heterodimerní komplex s ALX / FPR2, který neutralizuje působení prozánětlivého ligandu ALX / FPR2 zvaného sérový amyloid A (SAA) (Fredman, 2017).

## **10.2 Lipoxiny**

Lipoxiny (LX) jsou protizánětlivé bioaktivní molekuly, které regulují vstup granulocytů (neutrofilů a eosinofilů) a monocytů do místa zánětu. LX inhibují migraci granulocytů do zanícených míst a podporují nezánnětlivou infiltraci monocytů potřebnou pro rezoluci a hojení ran, aniž by indukovaly degranulaci neutrofilů nebo uvolňování reaktivních forem kyslíku (Bennett, 2017). Tyto lipidové mediátory generované na počátku rezoluce v místech zánětu podporují pro-rezoluční makrofágový fenotyp, čímž zvyšují eferocytózu (Kraft, 2021). LX zvyšují hladiny protizánětlivého růstového faktoru (TGF  $\beta$ -1), který transformuje cytokiny a reguluje řadu prozánětlivých cest. LX indukují produkci endoteliálních buněk protizánětlivou syntézou oxidu dusnatého (Bennett, 2017).

### **10.2.1 Lipoxin iniciovaný aspirinem**

Aspirin spouští endogenní tvorbu uhlíkových 15- epimerních lipoxinů (ATL) (Serhan, 2008). ATL je derivátem salicylátů, vzniklý acylací COX-2. Aspirin zasahuje do endogenního systému generujícího lipoxin během interakcí mezi buňkami. Na produkci ATL se podílejí buňky, které exprimují COX2, včetně vaskulárních endoteliálních buněk, epiteliálních buněk, makrofágů a neutrofilů. Acylace COX-2 aspirinem blokuje jeho schopnost biosyntetizovat prostaglandiny, ale nezhoršuje jeho schopnost produkovat prekurzory ATL. ATL přímo působí na T-buňky a blokují sekreci TNF (Serhan, 2008).

### 10.3 Resolviny

Resolviny jsou lipidové pro-rezoluční mediátory, které jsou indukovány endogenně během fáze zánětu (Freire, 2013). Resolviny mají důležitou roli při řešení zánětu a vykazují silné protizánětlivé účinky (Chattopadhyay, 2017). Tvoří se z  $\omega$ -3 PUFA, přičemž resolviny řady D (např. RvD1, RvD2, RvD3) (Pirault, 2018) jsou odvozeny z DHA sekvenční oxidací pomocí enzymů 15-LOX a 5-LOX (Chattopadhyay, 2017). Resolviny řady E se tvoří z EPA (Pirault, 2018).

#### 10.3.1 Resolvin D1

RvD1 urychluje *clearanci* neutrofilů a makrofágů, čímž zabraňuje hromadění imunitních buněk v místě zánětu. RvD1 snižuje zánět, oxidační stres a aktivitu zánětlivých cytokinů, jako jsou TNF- $\alpha$  a IL-6 (Halade, 2018).

#### 10.3.2 Resolvin D2

RvD2 má protizánětlivé účinky. RvD2 brání lipopolysacharidem vyvolanému zánětu regulací IL-6, NO, TNF- $\alpha$  a IL-1 $\beta$ . RvD2 zabraňuje aktivitě reaktivních forem kyslíku, které způsobují poškození tkáně během zánětlivé reakce. RvD2 zvyšují aktivitu makrofágů a dochází ke snížení zánětlivé odpovědi cytokinů (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-23 a TNF- $\alpha$ ) a neutrofilů. Ligand RvD2 přítomný v polymorfonukleárních neutrofilech v periferní krvi, monocytech a makrofázích vyvolává pro-rezoluční účinky pomocí receptoru GPR18 (Halade, 2018).

#### 10.3.3 Resolvin D3

RvD3 patří mezi nejúčinnějších resolviny řady D. RvD3 snižuje infiltraci a migraci neutrofilů při akutním zánětu. Podobně jako RvD1 stimuluje RvD3 produkci IL-10, což je silný inhibiční faktor syntézy cytokinů. RvD3 snižuje poškození tkáně, které je spojeno s prodlouženou zánětlivou odpovědí a stimuluje fagocytózu apoptotických neutrofilů. RvD3 přetrvávají po celou dobu rezoluce zánětu, zatímco RvD1 a RvD2 jsou přítomny pouze v časném stádiu rezoluce zánětu (Halade, 2018).

#### 10.3.4 Resolvin D4

RvD4 působí podobným způsobem jako ostatní metabolity DHA. Snižuje aktivitu neutrofilů v místě zánětu a zvyšuje aktivitu makrofágů v *clearanci* apoptotických buněk. RvD4 vykazuje pro-rezoluční vlastnosti, které zůstávají aktivní i v pozdních fázích rezoluce zánětu (Halade, 2018).

### 10.3.5 Resolvin E1

RvE1 zastavuje nábor leukocytů a podporuje rezoluci zánětu. RvE1 v průběhu rezoluce zánětu blokuje migraci polymorfonukleárních neutrofilů a usnadňuje apikální *clearance* těchto neutrofilů z epitelálních buněk sliznice (Halade, 2018). RvE1 zabraňuje tvorbě nekrotického jádra (Pirault, 2018), absorpci oxLDL a brání snižování prezentace antigenu (Laguna-Fernandez, 2018). RvE1 inhibuje produkci reaktivních kyslíkových meziproduktů v reakci na TNF- $\alpha$  a brání produkci prozánětlivých cytokinů a chemokinů. RvE1 stimuluje makrofágy k pohlcování apoptotických neutrofilů zvýšením počtu fagocytů přítomných v lymfatických uzlinách. RvE1 reguluje povrchové markery prozánětlivých buněk leukocytů, jako je L-selektin, zatímco selektivně narušuje agregaci trombocytů zprostředkovanou TX (Bennett, 2017).

### 10.3.6 Resolvin E2

Bioaktivní lipidový mediátor RvE2 má protizánětlivou a pro-rezoluční aktivitu prostřednictvím inhibice infiltrace leukocytů. RvE2 zprostředkovává zvýšenou produkci protizánětlivých cytokinů a inhibuje syntézu IL-1, TNF- $\alpha$  a dalších prozánětlivých cytokinů. RvE2 také napomáhá udržování tkáňové homeostázy během rezoluce zánětu. Rezoluci zánětu zprostředkovává prostřednictvím receptorů spojených s leukocytovým G-proteinem (R-23), aktivuje chemotaxi neutrofilů a fagocytózu (Halade, 2018).

## 10.4 Maresiny

Maresiny (MaR) mají významnou úlohu v rezoluci chronického zánětu. MaR snižují aktivitu cytokinů jako je IL-5 a IL-13 a naopak zvyšují množství aktivního TGF- $\beta$ , který mění profil CD4 a T regulačních lymfocytů. MaR blokují trvalou infiltraci neutrofilů do místa zánětu a zvyšují makrofágovou fagocytózu (Halade, 2018) a efferocytózu. MaR také podporují rezoluci akutního zánětu a regeneraci tkáně (Hwang, 2019).

## 10.5 Protektiny

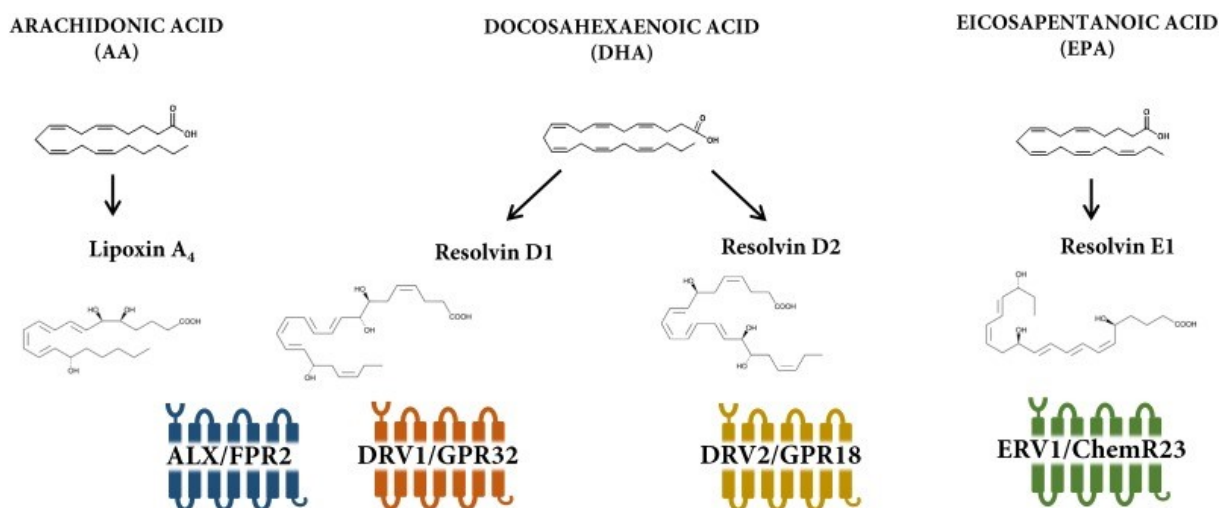
Mediátoři této rodiny se vyznačují přítomností konjugovaného trienového systému dvojných vazeb a jejich silnou bioaktivitou. Nejúčinnější je protektin D1. Ostatní přirozené izomery protektinů mají různé konfigurace dvojných vazeb a jsou méně účinné při tlumení náboru neutrofilů a zánětu (Serhan, 2008).

### 10.5.1 Protektin D1

Protektin D1 (PD1) je metabolitem DHA, který vykazuje silné protizánětlivé účinky. Snižuje aktivitu neutrofilů, inhibuje aktivaci prozánětlivých molekul (NF- $\kappa$ B a COX-2), které mají prozánětlivé vlastnosti a zvyšují makrofágovou fagocytózu apoptotických buněk. PD1 kontroluje poškození v místě zánětu a snižuje apoptózu vyvolanou oxidačním stresem (Halade, 2018).

### 10.6 Receptory

V současné době existují čtyři známé receptory lipoxinu a resolvinu. ALX / FPR2 pro lipoxin A4 a resolvin D1, DRV1 / GPR32 pro resolvin D1, DRV2 / GPR18 pro resolvin D2 a ERV1 / ChemR23 pro resolvin E1 (Obrázek 5) (Pirault, 2018).



Obrázek 5 Receptory a ligandy pro receptory lipoxinu a resolvinu (Pirault, 2018).

#### 10.6.1 Lipoxin A4 / formyl peptidový receptor 2

Formyl peptidový receptor 2 je díky interakci s lipoxinem A4 označován (ALX / FPR2). ALX / FPR2 stimuluje lipidové mediátory LXA 4, ATL, resolvin D1, D3 a annexin A1 k jejich pro-rezolučním účinkům, prostřednictvím eferocytózy, apoptózy granulocytů a výstupu leukocytů. ALX / FPR2 byl identifikován v makrofázích v aterosklerotických lézích (Pirault, 2018). Selhání rezoluce zánětu u aterosklerózy se projevuje narušenou rovnováhou mezi ligandy ALX / FPR2 se sníženou hladinou pro-rezolučních a zvýšenou hladinou pro-zánětlivých mediátorů. Stimulace pro-rezoluční signalizace ALX / FPR2 pomocí lipidových

nebo peptidových mediátorů, může vést k prevenci progresu aterosklerózy, ale také ke zvýšení stability aterosklerotického plaku (Pirault, 2018).

### **10.6.2 Resolvin řady D1 / receptor 32 spojený s G proteinem**

DRV1 / GPR32 je receptor resolvinu řady D1 v interakci s receptorem 32 spojeným s G proteinem. RvD1 a RvD3 jsou syntetizovány prostřednictvím receptoru DRV1 / GPR32, který je aktivován pomocí RvD5. DRV1 / GPR32 je exprimován v makrofázích, ve kterých zvyšuje fagocytózu (Pirault, 2018). DRV1 / GPR32 reguluje adaptivní imunitní odpověď tím, že brání diferenciaci T-lymfocytů směrem k Th1 a Th17, a také podporuje generování regulačních T-lymfocytů (Chiurchiù, 2016). Účinky D-resolvinu prostřednictvím DRV1 / GPR32 v makrofázích a T-lymfocytech mají příznivé účinky při vaskulárních zánětlivých stavech (Pirault, 2018). DRV1 / GPR32 je exprimován na cévním endotelu a má tak přímé účinky na cévní stěnu (Chattopadhyay, 2017). Ochranné účinky RvD1 jsou blokovány neutralizací protilátek proti antagonismu receptoru DRV1 / GPR32 a ALX / FPR2 (Chattopadhyay, 2017).

### **10.6.3 Resolvin řady D2 / receptor 18 spojený s G proteinem**

DRV2 / GPR18 je receptor resolvinu řady D2 spojený s G proteinem, který se podílí na vývoji a navádění lymfocytů CD8 $\alpha$  + v tenkém střevě. Zvýšená exprese GPR18 v makrofázích do zánětlivého fenotypu M1 pomáhá udržovat prozánětlivý účinek. DRV2 snižuje aktivaci inflamasonu, zatímco stimulace DRV2 / GPR18 pomocí NAGly receptoru v makrofázích zvyšuje apoptózu a expresi kaspázy-3 (Pirault, 2018).

### **10.6.4 Receptor pro chemerin a resolvin E1**

Receptor pro chemerin a resolvin E1 (ERV1 / CHEMR23) je lokalizován u makrofágů CD68 nacházejících se v blízkosti nekrotického jádra (Laguna-Fernandez, 2018). RvE1 omezuje infiltraci neutrofilů podporou apoptózy a eferocytózy neutrofilů. Pro-rezoluční účinky RvE1 jsou indukovány prostřednictvím receptoru ERV1 / CHEMR23 (Pirault, 2018).

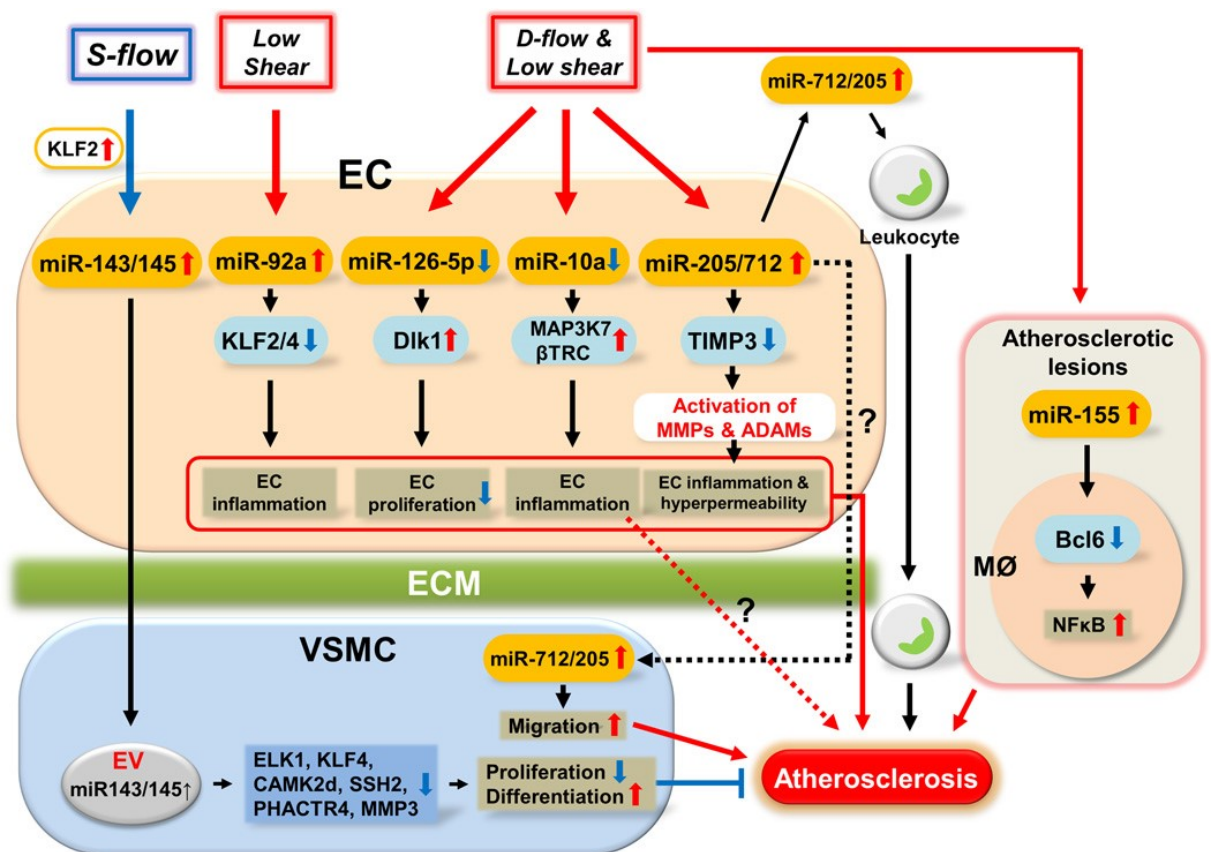
## 11 MicroRNA

MiR jsou krátké nekódující RNA o délce přibližně 20 nukleotidů, které regulují genovou expresi. MicroRNA jsou během vývoje aterosklerózy dysregulované a mají důležitou roli v regulaci funkce a polarizace makrofágů (Kumar, 2014).

### 11.1 Mechano-microRNA

Mechano-miR jsou odpovědné za regulaci endotelu, která je závislá na krevním toku v cévě. Mechano-miR se rozdělují do tří tříd podle jejich proaterogenních nebo antiaterogenních účinků. 1) antiaterogenní mechano-miRs, 2) pro-aterogenní mechano-miRs a 3) dvouúčelové mechano-miRs. Antiaterogenní mechano-miR zahrnují miR-10a, 19a, 23b, 101, 143 a 145, které jsou buď upregulované pomocí laminárního smykového napětí (LS), nebo jsou downregulované pomocí oscilačního smykového napětí (OS). Proaterogenní mechano-miR zahrnují miR-92a, 663, 712 a 205. Dvouúčelové mechano-miR zahrnují miR-21, 155 a 126. Funkce jednotlivých mechanosenzitivních miRNA v ateroskleróze jsou shrnuty na Obrázek 6 (Feinberg, 2016).

MiRNAs se mohou podílet buď na zvyšování, nebo snižování makrofágových odpovědí na zánětlivé podněty. Například miR-147 a miR-21 tlumí signální děje spojené s TLR v makrofázích za účelem omezení zánětu. Exprese miR-146a je vyvolána v makrofázích pomocí apolipoproteinu E (apoE), který má antiaterosklerotické vlastnosti a potlačuje zánětlivé reakce makrofágů. Zvýšením exprese miR-124a a miR-150 dochází ke snížení exprese proaterosklerotických chemokinů, jako jsou např. CCL2 a CXCL1. MiR-342-5p patří mezi nejvýznamnější miR indukované během časně ateroskleroze v makrofázích. Tato miR zvyšuje produkci zánětlivých mediátorů makrofágů jako je např. IL-6, potlačením exprese miR-155. Inhibice miR-342-5p tedy brání progresi aterosklerózy (Malekmohammad, 2019).



Obrázek 6 Funkce jednotlivých mechanosenzitivních miRNA v ateroskleróze (Feinberg, 2016).

### 11.1.1 MicroRNA 143 / 145

MiRs jsou schopné přenosu z jedné buňky do druhé. V endotelových buňkách se uvolňují extracelulární vezikuly obsahující miR-143 a miR-145, které mají ateroprotektivní vlastnosti v sousedních cévních hladkých svalových buňkách (VSMC) a brání progresi aterosklerotických lézí (Malekmohammad, 2019).

### 11.1.2 MicroRNA-92

MiR-92a je exprimována v endotelových buňkách, které tvoří vnitřní vrstvu cév a je regulována smykovým stresem. MiR-92a se váže na 3'-UTR KLF2 transkripční faktor, který reaguje na proud krve a má tak důležitou roli v regulaci laminárního toku. Zvýšená exprese miR-92a v endotelových buňkách snižuje expresi KLF2 a KLF4 reagujících na tok krve, kdežto miR-92a antagonismus snižuje zánět v endotelových buňkách a potlačuje progresi tvorby aterosklerotických lézí (Malekmohammad, 2019).

### **11.1.3 MicroRNA-712 / 205**

MiR-712 (lidský homolog miR-205) cílí na inhibitor metaloproteinázy (TIMP3), který zvyšuje expresi matrixové metaloproteinázy (MMP) a dezintegrační metaloproteinázy (ADAM) ke stimulaci prozánětlivých odpovědí endotelových buněk. Neutralizace miR-712 potlačuje expresi TIMP3 a zmírňuje aterosklerotickou progresi (Malekmohammad, 2019).

### **11.1.4 MicroRNA-155**

MiR-155 může mít jak protizánětlivé, tak i prozánětlivé účinky. Při deficitu miR-155 v kostní dřeni dochází k zvýšení progresu aterosklerózy se sníženou stabilitou plaku, naopak deficit miR-155 v makrofázích snižuje velikost aterosklerotického plaku a přispívá ke zlepšení endoteliální bariéry a migraci monocytů (Malekmohammad, 2019). MiR-155 je výrazně zvýšena v plazmě a placích u aterosklerotických pacientů. Inhibice miR-155 snižuje prozánětlivé cytokiny a chemokiny a zvyšuje markery M2, čímž přispívá ke snížení zánětu v ateroskleróze (Kumar, 2014).

### **11.1.5 MicroRNA-126**

MiR-126 je nejčastěji exprimovaná miRNA v endotelových buňkách, která se podílí na regulaci zánětu a angiogenezi a je závislá na průtoku krve cévou. MiR-126 se váže k 3'-UTR VCAM-1 a brání tak adhezi leukocytů. V důsledku deficitu miR-126 se zhoršuje vaskulární integrita a zvyšují se defekty v proliferaci endotelových buněk a angiogenezi. Progenitorové buňky jsou přesouvány společně s endotelovými buňkami a dochází tak k zvyšování jejich zabudování do aortálních plaků a potlačení aterosklerotické progresu (Malekmohammad, 2019).



## 12 Oxidační stres

Při oxidačním stresu dochází k narušení prooxidační a antioxidační rovnováhy, která vede k poškození buněčných struktur, aktivaci prozánětlivých signálních drah a expresi cytokinů a chemokinů. Oxidační stres je způsoben nerovnováhou mezi výskytem reaktivních forem kyslíku (ROS) a dusíku (RNS) a schopností organismu působit svými antioxidačními ochrannými systémy. Mezi reaktivní formy kyslíku patří chemicky aktivní sloučeniny jako peroxid vodíku ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), superoxid ( $\text{O}_2^-$ ), singletový kyslík ( $1/2 \text{O}_2$ ) a hydroxylový radikál ( $\cdot\text{OH}$ ). K oxidačnímu stresu dochází v důsledku zvýšené produkce reaktivních forem kyslíku nebo nedostatečné antioxidační ochrany (Kibel, 2020).

### 12.1 Mechanismy oxidačního stresu

Chronický zánět je patofyziologickým procesem aterosklerózy, kde oxidační stres hraje zásadní roli v regulaci vaskulární homeostázy včetně růstu, proliferace a migrace buněk endotelu a hladkého svalstva (Perrotta, 2015). Zvýšený oxidační stres zvyšuje expresi zánětlivých faktorů, jako jsou IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 a TNF- $\alpha$  a adhezivních markerů, jako jsou ICAM-1 a VCAM-1, spolu se sníženou hladinou endotelové syntázy oxidu dusnatého (eNOS) (Varghese, 2018), což vede k vaskulárnímu zánětu a účasti na oxidačním procesu LDL. OxLDL má cytotoxický účinek na vaskulární buňky a receptory pro odstranění makrofágů, které je mohou fagocytovat a vytvářet pěnové buňky, které se, jak už bylo zmíněno, ukládají ve stěně cév a vytvářejí aterosklerotický plak. OxLDL zvyšuje aktivitu NADPH oxidázy, což vede ke zvyšování syntézy reaktivních forem kyslíku a k deaktivaci oxidu dusnatého (NO) a také způsobuje dysfunkci eNOS tím, že ji vytěsňuje z místa alveolární membrány a zvyšuje aktivitu arginázy II, čímž snižuje množství *L*-argininu pro eNOS, což vede k dalšímu snížení syntézy NO (Perrotta, 2015). OxLDL zvyšuje syntézu matricových metaloproteináz (MMP), konkrétně MMP-1, MMP-3 a MMP-9, které přispívají k rozpadu vazivové čepičky a následnému prasknutí aterosklerotického plaku (Perrotta, 2015).

V endotelových buňkách je spuštěno několik zánětlivých drah v reakci na cirkulující mastné kyseliny, jako je kyselina palmitová. Endotelové buňky způsobují nadměrnou produkci extracelulárního ATP a zvýšenou aktivaci purinergních receptorů P2X7 a P2X4. Purinergní receptory aktivují kaskádu zánětu, která dále zvyšuje generování reaktivních forem kyslíku. Aterogenní molekuly dále indukují stres endoplazmatického retikula, který inhibuje eNOS a zvyšuje generaci reaktivních forem kyslíku zprostředkovanou NADPH oxidázou v endotelových buňkách (Varghese, 2018). Reaktivní formy kyslíku zvyšují aktivaci

polymerázy 1 (PARP1), která poškozuje mtDNA, a tím i mitochondriální transportní řetězec (Perrotta, 2015).

## 12.2 Nikotinamidadeninukleotidfosfát oxidasa

Hlavním zdrojem reaktivních forem kyslíku v cévní stěně jsou redukované nikotinamidadeninukleotidfosfátové (NADPH) oxidázy rodiny Nox. Za normálních fyziologických podmínek je úroveň exprese NADPH oxidáz v nefagocytických buňkách poměrně nízká. Po vystavení mitogenním, nebo transformujícím růstovým faktorům se hladiny NADPH oxidázy zvýší a výrazně zvýší i produkci reaktivních forem kyslíku (Varghese, 2018). NADPH oxidáza je enzym, který se nachází v membráně endotelových buněk, buňkách hladkého svalstva a fibroblastů, a patří mezi hlavní zdroj  $O_2^-$  (Perrotta, 2015).

Dnes je známo celkem sedm podskupin Nox. Nox1 může přispívat k rozvoji a progresi aterosklerotických lézí modulací různých cest, jako je infiltrace makrofágů nebo buněčnou proliferací. Exprese Nox2 je upregulována v endotelu cév a makrofázích a je spojena se zvýšením tvorby superoxidových aniontů, které aktivují endotelové buňky a zahajují proces aterosklerózy. Absence Nox2 inhibuje produkci reaktivních forem kyslíku, zvyšuje biologickou dostupnost NO a výrazně snižuje tvorbu plaků. Nox4 reguluje adipogenezi a migraci hladkých svalových buněk, která vede k modulaci endotelových buněk během aterogeneze. Nox5 přímo aktivuje eNOS v endotelových buňkách, což vede k produkci peroxynitritu a tím přispívá k endoteliální dysfunkci (Varghese, 2018). Angiotensin II, trombin, růstový faktor odvozený z krevních destiček, TNF- $\alpha$  a laktosylceramid, zvyšují regulaci NADPH a způsobují tak nadměrnou produkci reaktivních forem kyslíku (Perrotta, 2015).

## 12.3 Endoteliální dysfunkce

Endoteliální dysfunkce je způsobená oxidačním stresem v časném stadiu aterosklerózy. Nerovnováha mezi biologickou dostupností NO a reaktivních forem kyslíku, zvyšuje endoteliální dysfunkci, a také způsobuje poruchy ve vaskulární remodelaci, které vedou k nekontrolovatelnému poškození cév. Endotel velmi citlivě reaguje na mechanické podněty, chemické faktory a humorální látky tím, že produkuje NO k udržení vazomotorického tonu a strukturální integrity. NO má silné vazodilatační, protizánětlivé a antitrombotické vlastnosti v antioxidační obraně endotelu (Perrotta, 2015). Hlavní příčinou endoteliální dysfunkce je tedy zhoršená biologická dostupnost NO, který je syntetizován prostřednictvím enzymu eNOS, který využívá tetrahydrobiopterin k tvorbě NO z *L*-argininu (Perrotta, 2015).

Prvním krokem endoteliální dysfunkce je endoteliální aktivace, která zvyšuje expresi protrombotických a prozánětlivých endotelových buněk. Endoteliální dysfunkce dále zahrnuje poruchy vazodilatace, zvýšenou vaskulární reaktivitu, expresi chemotaktických a adhezivních molekul, zvýšenou aktivaci krevních destiček a tvorbu trombu. Zvýšená propustnost endotelu, adheze leukocytů a migrace monocytů do cévní stěny, a také zhoršená regenerace endoteliálních buněk a migrace buněk hladkého svalstva, vede následně k poškození cév (Perrotta, 2015).

## **13 Antioxidanty**

Antioxidanty jsou molekuly, které mají schopnost inhibovat oxidaci jiných molekul, k čemuž dochází prostřednictvím vychytávání oxidantů, nebo snížením produkce reaktivních forem kyslíku (Kibel, 2020) dříve, než dojde k reakci s buněčnými biomolekulami a změně jejich struktury nebo funkce. Antioxidanty mají dvoustupňový obranný mechanismus. 1) Primární obranný mechanismus přímo inhibuje oxidační poškození. Dochází k zachytávání volných radikálů, které by mohly poškodit biomolekuly. V buňce hrají důležitou roli endogenní enzymy, mezi které patří superoxiddismutáza (SOD), kataláza (Cat) a glutathionperoxidáza (GPx). 2) Sekundární obranný mechanismus, do kterého řadíme vitamin C, vitamin E a kyselinu močovou, které vychytávají volné radikály. Mezi endogenní neenzymatické antioxidanty patří glutathion (GSH), kyselina močová, bilirubin, koenzym Q (CoQ) a kyselina lipoová (Poznyak, 2020).

### **13.1 Superoxiddismutáza**

Superoxiddismutáza (SOD) zhasí superoxidový radikál, čímž brání tvorbě peroxynitritu a redukcí iontů přechodných kovů (Poznyak, 2020). Interaguje se superoxidem a přeměňuje ho na peroxid vodíku, který prochází dalším enzymatickým zpracováním glutathionperoxidázami, katalázami a thioredoxiny. Nadměrná exprese SOD přímo nevede ke snížení produkce reaktivních forem kyslíku, protože je stále produkováno určité množství oxidantů z peroxidu vodíku, které také mohou přispívat k rozvoji aterosklerózy. Zatímco nadměrná exprese samotné SOD1 vede k vývoji patologie. SOD tedy mají obousměrný účinek, jsou schopny inhibovat poškození způsobené anionty, ale mohou také vyvolat oxidační stres při absenci následných enzymů (Kibel, 2020).

## 13.2 Kataláza

Kataláza je jedním z nejdůležitějších antioxidačních enzymů (Nandi, 2019). V buňce se nachází v peroxizomech, kde rozkládá peroxid vodíku na vodu a kyslík (Kibel, 2020). Tento enzym vyvolává pokles proliferace buněk vaskulárního hladkého svalstva (Poznyak, 2020) a zmírňuje progresi aterosklerózy (Kibel, 2020).

## 13.3 Glutathion

Glutathion je důležitý intracelulární antioxidant rozpustný ve vodě, který je kofaktorem pro antioxidační enzymy, jako je glutathionperoxidasa. Hlavním účinkem glutathionu při ateroskleróze je vychytávání hydroxidu (OH), kyseliny chlorné (HOCl) a peroxynitritu (ONOO<sup>-</sup>) (Poznyak, 2020).

## 13.4 Koenzym Q

Koenzym Q (CoQ) je lipofilní antioxidant s protizánětlivými účinky, který je přítomen v buněčných membránách. CoQ inhibuje oxidaci lipidů a snižuje přeměnu  $\alpha$ -tokoferoxylového radikálu na  $\alpha$ -tokoferol. CoQ vychytává peroxylové radikály, čímž zlepšuje endoteliální funkci (Poznyak, 2020).

## 13.5 Kyselina lipoová

Kyselina lipoová je syntetizována mitochondriemi. Je kofaktorem pro mitochondriální  $\alpha$ -ketokyselinové dehydrogenázy a je schopná inhibovat vývoj aterosklerotických lézí. Zachytává ONOO<sup>-</sup>, HOCl a peroxylové radikály. Mezi další účinky kyseliny lipoové patří zeslabení endoteliální dysfunkce, snížení zánětlivých markerů a zvýšení aktivity eNOS (Poznyak, 2020).

## 13.6 Exogenní neenzymatické antioxidanty

Mezi endogenní neenzymatické antioxidanty proti ateroskleróze patří vitamín C, který zvyšuje aktivitu NOS, produkci a následně i biologickou dostupnost NO. Brání agregaci leukocytů a adhezi k endotelu a také zachycuje reaktivní formy kyslíku (Poznyak, 2020). Dále vitamín B, který má významnou roli ve vychytávání hydroxylových a lipidových peroxylových radikálů (95). Vitamin E, který zachytává volné radikály a snižuje oxidaci LDL inhibicí exprese CD36 a *scavenger* receptoru třídy B (I-SR) v cévních hladkých svalových buňkách. Vitamin E brání vzniku pěnových buněk, endoteliální dysfunkci a dokáže zmírňovat zánět (Poznyak, 2020). Vitamin A a jeho provitaminy zachytávají volné radikály a tím zabraňují peroxidaci

LDL. Karotenoidy jsou navíc schopné zvyšovat aktivitu LDL receptorů makrofágů a snižovat tak množství cirkulujících LDL, zánět, oxidační stres a endoteliální dysfunkci (Poznyak, 2020).

## ZÁVĚR

Ateroskleróza je chronické zánětlivé onemocnění arteriální cévní stěny. Infiltrace a modifikace lipoproteinů a jejich pohlcení makrofágy s následnou tvorbou lipidových pěnových buněk, iniciuje tvorbu aterosklerotických lézí, zatímco nedostatečné eferocytotické odstranění apoptotických buněk a pěnových buněk udržuje progresi lézí. Účinná rezoluce zánětu je důležitá nejen pro ukončení zánětlivé odpovědi, ale také pro obnovení integrity tkáně. Eferocytóza slouží nejen jako mechanismus odstranění apoptotických buněk, ale také podporuje pro-rezoluční fenotyp makrofágů a tím ukončení zánětu. Defektní eferocytóza vede k akumulaci sekundárně nekrotických makrofágů a pěnových buněk a tvorbě pokročilé léze s nekrotickým lipidovým jádrem, což svědčí o zranitelnosti plaku.

Oxidační stres způsobený nerovnováhou mezi výskytem reaktivních forem kyslíku, dusíku a antioxidačními mechanismy má také důležitou roli v rozvoji aterogeneze. Oxidační stres vede k aktivaci prozánětlivých signálních drah, zvyšuje expresi zánětlivých faktorů, jako je např. IL-1 a IL-6, což přispívá k progresi zánětu a účasti na oxidaci LDL lipoproteinů. Mechanismy působení oxLDL vedou k rozpadu vazivové čepičky a následnému prasknutí aterosklerotického plaku. Při endoteliální dysfunkci dochází ke zvýšení exprese prozánětlivých endotelových buněk a následně k tvorbě patologických změn.

Rezoluce zánětu je zprostředkována specializovanými pro-rezolučními lipidovými mediátory odvozenými od  $\omega$ -6 a  $\omega$ -3 mastných kyselin. Dělí se do čtyř hlavních tříd, a to lipoxinů, resolvinů, protektinů a maresinů. Hlavním účinkem mediátorů rezoluce zánětu je fenotypová přeměna prozánětlivých makrofágů na makrofágy, které zmírňují zánět a podporují hojení a odstraňování mrtvých buněk. Polynenasycené mastné kyseliny regulují nástup, prodloužení a rezoluci zánětu a jsou schopny inhibovat různé cesty včetně chemotaxe leukocytů, exprese adhezních molekul, interakci a tvorbu zánětlivých cytokinů působením specializovaných lipidových mediátorů a jsou tak považovány za protizánětlivé látky.

Pochopení protizánětlivých mechanismů eferocytózy nutných k vyřešení zánětu může vést k vývoji nových terapeutik zaměřených na potlačování nežádoucího zánětu, ale také k odhalení nových mechanismů patogeneze a vývoji léků, které jsou schopné řídit zánětlivé procesy cílenými a kontrolovanými způsoby.

## SEZNAM ZKRATEK

|                                   |   |
|-----------------------------------|---|
| <b>AA</b>                         | kyselina arachidonová   |
| <b>ADAM</b>                       | dezintegrační metaloproteináza                                    |
| <b>ADAM 17</b>                    | metaloproteináza 17   |
| <b>ALX / FPR2</b>                 | formyl peptidový receptor 2                                       |
| <b>ApoB</b>                       | apolipoprotein B  |
| <b>ApoE</b>                       | apolipoprotein E  |
| <b>ASC</b>                        | apoptosis-associated speck-line protein                           |
| <b>ATL</b>                        | 15- epimerní lipoxin  |
| <b>ATP</b>                        | adenosintrifosfát   |
| <b>cAMP</b>                       | cyklický 3',5'-adenosinmonofosfát                                 |
| <b>Cat</b>                        | kataláza  |
| <b>CCR2, CCR5,<br/>CCR7</b>       | CC-chemokinové receptory  |
| <b>CD14 +</b>                     | diferenční skupina 14   |
| <b>CD16 –</b>                     | Fcy receptor typu III   |
| <b>CD36</b>                       | diferenční skupina 36   |
| <b>CD47</b>                       | diferenční skupina 47   |
| <b>CED-3</b>                      | cysteine-dependent aspartate-directed protease                    |
| <b>CoQ</b>                        | koenzym Q   |
| <b>COX</b>                        | cyklooxygenáza  |
| <b>CR1, CX3</b>                   | chemokinové receptory   |
| <b>CYP450</b>                     | cytochrom P450  |
| <b>DAMP</b>                       | molekulární vzory spojené s poškozením / nebezpečím               |
| <b>DHA</b>                        | kyselina dokosaheptaenová   |
| <b>DRV1 / GPR32</b>               | receptor resolvinu řady D1 s receptorem 32 spojeným s G proteinem |
| <b>DRV2 / GPR18</b>               | receptor resolvinu řady D2 spojený s G proteinem                  |
| <b>EET</b>                        | kyselina epoxyeikosatrienová                                      |
| <b>eNOS</b>                       | endotelová syntáza oxidu dusnatého                                |
| <b>EPA</b>                        | kyselina eikosapentaenová   |
| <b>ERV1 / CHEMR23</b>             | receptor pro chemerin a resolvin E1                               |
| <b>GM-CSF</b>                     | faktor stimulující kolonie granulocytů a makrofágů                |
| <b>GPx</b>                        | glutathionperoxidáza  |
| <b>GSH</b>                        | glutathion  |
| <b>HDL</b>                        | lipoprotein s vysokou hustotou                                    |
| <b>HETE</b>                       | hydroxyeikosatetraenová kyselina                                  |
| <b>HOCl</b>                       | kyselina chlorná  |
| <b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b> | peroxid vodíku  |
| <b>ICAM-1</b>                     | adhezivní marker  |
| <b>ICE</b>                        | enzym konvertující IL-1   |
| <b>IPAF</b>                       | ICE-protease activating factor                                    |
| <b>IL-1</b>                       | interleukin-1   |
| <b>IL-5</b>                       | interleukin-5   |

|                                  |  |
|----------------------------------|--|
| <b>IL-6</b>                      | interleukin-6  |
| <b>IL-10</b>                     | interleukin-10   |
| <b>IL-12</b>                     | interleukin-12   |
| <b>IL-13</b>                     | interleukin-13   |
| <b>IL-18</b>                     | interleukin-18   |
| <b>KLF2</b>                      | krüppel-like factor 2                                    |
| <b>KLF4</b>                      | krüppel-like factor 4                                    |
| <b>LA</b>                        | kyselina linolová  |
| <b>LDL</b>                       | lipoprotein s nízkou hustotou                            |
| <b>LOX-1</b>                     | receptor-1 pro oxidovaný lipoprotein s nízkou hustotou   |
| <b>LPS</b>                       | lipopolysacharid   |
| <b>LRP1</b>                      | LDL související s proteinem 1                            |
| <b>LT</b>                        | leukotrieny  |
| <b>LTC 4</b>                     | leukotrien C4  |
| <b>LTD 4</b>                     | leukotrien D4  |
| <b>LX</b>                        | lipoxiny   |
| <b>Mar</b>                       | maresiny   |
| <b>MCP-1</b>                     | monocytový chemoatraktivní protein-1                     |
| <b>M-CSF</b>                     | faktor stimulující kolonie makrofágů                     |
| <b>MERTK</b>                     | apoptotický tyrosinkinázový receptor na buněčném povrchu |
| <b>MMP</b>                       | matrixová metaloproteináza                               |
| <b>mtDNA</b>                     | mitochondriální DNA                                      |
| <b>NADPH</b>                     | nikotinamidadeninukleotidfosfát                          |
| <b>NF-κB</b>                     | nukleární faktor kappa B                                 |
| <b>NLRP3</b>                     | NLR Family Pyrin Domain Containing 3                     |
| <b>NLRs</b>                      | nucleotide binding and oligomerization like receptors    |
| <b>NO</b>                        | oxid dusnatý   |
| <b>O<sub>2</sub><sup>·</sup></b> | superoxid  |
| <b>1/2 O<sub>2</sub></b>         | singletový kyslík  |
| <b>·OH</b>                       | hydroxylový radikál                                      |
| <b>ONOO<sup>-</sup></b>          | peroxynitrit   |
| <b>OS</b>                        | oscilační smykové napětí                                 |
| <b>oxLDL</b>                     | oxidovaný LDL  |
| <b>P</b>                         | protektiny   |
| <b>PAMP</b>                      | molekulární vzory spojené s patogenem                    |
| <b>PARP1</b>                     | polymeráza 1   |
| <b>PG</b>                        | prostaglandiny   |
| <b>PGE 2</b>                     | prostaglandin E2   |
| <b>PGI 2</b>                     | prostaglandin I2   |
| <b>PLA<sub>2</sub></b>           | fosfolipáza A2   |
| <b>PLC</b>                       | fosfolipáza C  |
| <b>PRR</b>                       | receptory pro rozpoznávání nebezpečných vzorů            |
| <b>PUFA</b>                      | polynenasycené mastné kyseliny                           |



|                                |  |
|--------------------------------|--|
| <b>P2X7 a P2X4</b>             | purinergní receptory   |
| <b>ROS</b>                     | reaktivní formy kyslíku  |
| <b>RNS</b>                     | reaktivní formy dusíku   |
| <b>Rv</b>                      | resolviny  |
| <b>RvD1, RVD2, RvD3</b>        | resolviny řady D   |
| <b>RvE1</b>                    | resolvin E1  |
| <b>SAA</b>                     | sérový amyloid A   |
| <b>SIRP<math>\alpha</math></b> | signal regulatory protein $\alpha$                               |
| <b>SOD</b>                     | superoxiddismutáza   |
| <b>SPM</b>                     | specializované pro-rezoluční lipidové mediátory                  |
| <b>TFEB</b>                    | rekombinantní protein transkripčního faktoru                     |
| <b>TGF</b>                     | transformující růstový faktor                                    |
| <b>TIM</b>                     | proteiny T-lymfocytového imunoglobulinového mucinového receptoru |
| <b>TLRs</b>                    | Toll-like receptors  |
| <b>TNF</b>                     | tumor nekrotizující faktor                                       |
| <b>TX</b>                      | tromboxany   |
| <b>VCAM-1</b>                  | vaskulární buněčné adhezní molekuly-1                            |
| <b>VSMC</b>                    | hladké svalové buňky   |
| <b><math>\omega</math>-3</b>   | omega 3 mastné kyseliny  |
| <b><math>\omega</math>-6</b>   | omega 6 mastné kyseliny  |

## SEZNAM OBRÁZKŮ

|  |    |
|--|----|
| <b>OBRÁZEK 1:</b> EFEROCYTÓZA V MAKROFÁZÍCH ZA FYZIOLOGICKÉHO STAVU A V<br>ATEROSKLEROTICKÝCH LÉZÍCH ..... | 20 |
| <b>OBRÁZEK 2:</b> CESTY REGULUJÍCÍ RETENCI A MIGRACI MAKROFÁGŮ V PLACÍCH. ....                             | 24 |
| <b>OBRÁZEK 3:</b> REZOLUCE VERSUS CHRONICKÝ ZÁNĚT U ATEROSKLERÓZY .....                                    | 26 |
| <b>OBRÁZEK 4:</b> EIKOSANOIDNÍ A PROSTANOIDNÍ SYNTÉZA. ....  | 32 |
| <b>OBRÁZEK 5:</b> RECEPTORY A LIGANDY PRO RECEPTORY LIPOXINU A RESOLVINU .....                             | 36 |
| <b>OBRÁZEK 6:</b> FUNKCE JEDNOTLIVÝCH MECHANOSENZITIVNÍCH MIRNA<br>V ATEROSKLERÓZE. ....                   | 39 |

## SEZNAM TABULEK

|  |    |
|--|----|
| <b>TABULKA 1:</b> MECHANISMY ÚČINKŮ INHIBITORŮ NLRP3 INFLAMASOMU. .... | 17 |
|--|----|

## SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

BÄCK, Magnus, Arif YURDAGUL, Ira TABAS, Katariina ÖÖRNI a Petri T. KOVANEN, 2019. Inflammation and its resolution in atherosclerosis: mediators and therapeutic opportunities. *Nature Reviews Cardiology* [online]. [cit. 2021-04-29]. ISSN 1759-5002. Dostupné z: doi:10.1038/s41569-019-0169-2

BAE, Yun Soo, Jee Hyun LEE, Soo Ho CHOI, Sunah KIM, Felicidad ALMAZAN, Joseph L. WITZTUM a Yury I. MILLER, 2009. Macrophages Generate Reactive Oxygen Species in Response to Minimally Oxidized Low-Density Lipoprotein. *Circulation Research* [online]. **104**(2), 210-218 [cit. 2021-04-29]. ISSN 0009-7330. Dostupné z: doi:10.1161/CIRCRESAHA.108.181040

BALDRIGHI, Marta, Ziad MALLAT a Xuan LI, 2017. NLRP3 inflammasome pathways in atherosclerosis. *Atherosclerosis* [online]. **267**, 127-138 [cit. 2021-04-29]. ISSN 00219150. Dostupné z: doi:10.1016/j.atherosclerosis.2017.10.027

BASIL, Maria C. a Bruce D. LEVY, 2016. Specialized pro-resolving mediators: endogenous regulators of infection and inflammation. *Nature Reviews Immunology* [online]. **16**(1), 51-67 [cit. 2021-04-29]. ISSN 1474-1733. Dostupné z: doi:10.1038/nri.2015.4

BENNETT, Melanie a Derek W. GILROY, 2017. Lipid Mediators in Inflammation. GORDON, ed. *Myeloid Cells in Health and Disease* [online]. 6. American Society of Microbiology, s. 343-366 [cit. 2021-04-29]. ISBN 9781555819187. Dostupné z: doi:10.1128/microbiolspec.MCHD-0035-2016

BRABCOVÁ, Eva, 2009. *Kaspasové inhibitory a regulace tvorby cytokinů z rodiny interleukinu 1*. Praha. Diplomová práce. Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze. Vedoucí práce Vedoucí práce : Doc. MUDr. Ilja Stříž, CSc.

BRINTON, Eliot A. a R. Preston MASON, 2017. Prescription omega-3 fatty acid products containing highly purified eicosapentaenoic acid (EPA). *Lipids in Health and Disease* [online]. **16**(1) [cit. 2021-04-29]. ISSN 1476-511X. Dostupné z: doi:10.1186/s12944-017-0415-8

BRUEN, Robyn, Stephen FITZSIMONS a Orina BELTON, 2019. MiR-155 in the Resolution of Atherosclerosis. *Frontiers in Pharmacology* [online]. **10** [cit. 2021-04-30]. ISSN 1663-9812. Dostupné z: doi:10.3389/fphar.2019.00463

DENNIS, Edward A. a Paul C. NORRIS, 2015. Eicosanoid storm in infection and inflammation. *Nature Reviews Immunology* [online]. **15**(8), 511-523 [cit. 2021-04-30]. ISSN 1474-1733. Dostupné z: doi:10.1038/nri3859

DUEWELL, Peter, Hajime KONO, Katey J. RAYNER et al., 2010. NLRP3 inflammasomes are required for atherogenesis and activated by cholesterol crystals. *Nature* [online]. **464**(7293), 1357-1361 [cit. 2021-04-29]. ISSN 0028-0836. Dostupné z: doi:10.1038/nature08938

EMANUEL, Roy, Ismail SERGIN, Somashubhra BHATTACHARYA et al., 2014. Induction of Lysosomal Biogenesis in Atherosclerotic Macrophages Can Rescue Lipid-Induced Lysosomal Dysfunction and Downstream Sequelae. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* [online]. **34**(9), 1942-1952 [cit. 2021-04-29]. ISSN 1079-5642. Dostupné z: doi:10.1161/ATVBAHA.114.303342

EMINI VESELI, Besa, Paola PERROTTA, Gregory R.A. DE MEYER, Lynn ROTH, Carole VAN DER DONCKT, Wim MARTINET a Guido R.Y. DE MEYER, 2017. Animal models of atherosclerosis. *European Journal of Pharmacology* [online]. **816**, 3-13 [cit. 2021-04-29]. ISSN 00142999. Dostupné z: doi:10.1016/j.ejphar.2017.05.010

- ESSER-VON BIEREN, Julia, 2019. Eicosanoids in tissue repair. *Immunology and Cell Biology* [online]. **97**(3), 279-288 [cit. 2021-04-30]. ISSN 08189641. Dostupné z: doi:10.1111/imcb.12226
- FARESE, Robert V. a Tobias C. WALTHER, 2009. Lipid Droplets Finally Get a Little R-E-S-P-E-C-T. *Cell* [online]. **139**(5), 855-860 [cit. 2021-04-29]. ISSN 00928674. Dostupné z: doi:10.1016/j.cell.2009.11.005
- FEINBERG, Mark W. a Kathryn J. MOORE, 2016. MicroRNA Regulation of Atherosclerosis. *Circulation Research* [online]. **118**(4), 703-720 [cit. 2021-05-02]. ISSN 0009-7330. Dostupné z: doi:10.1161/CIRCRESAHA.115.306300
- FISHER, Edward A., 2016. Regression of Atherosclerosis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* [online]. **36**(2), 226-235 [cit. 2021-04-29]. ISSN 1079-5642. Dostupné z: doi:10.1161/ATVBAHA.115.301926
- FREDMAN, Gabrielle a Matthew SPITE, 2017. Specialized pro-resolving mediators in cardiovascular diseases. *Molecular Aspects of Medicine* [online]. **58**, 65-71 [cit. 2021-04-29]. ISSN 00982997. Dostupné z: doi:10.1016/j.mam.2017.02.003
- FREIRE, Marcelo O. a Thomas E. VAN DYKE, 2013. Natural resolution of inflammation. *Periodontology 2000* [online]. **63**(1), 149-164 [cit. 2021-05-04]. ISSN 09066713. Dostupné z: doi:10.1111/prd.12034
- GALKINA, Elena a Klaus LEY, 2009. Immune and Inflammatory Mechanisms of Atherosclerosis. *Annual Review of Immunology* [online]. **27**(1), 165-197 [cit. 2021-04-29]. ISSN 0732-0582. Dostupné z: doi:10.1146/annurev.immunol.021908.132620
- GUO, Haitao, Justin B CALLAWAY a Jenny P-Y TING, 2015. Inflammasomes: mechanism of action, role in disease, and therapeutics. *Nature Medicine* [online]. **21**(7), 677-687 [cit. 2021-04-29]. ISSN 1078-8956. Dostupné z: doi:10.1038/nm.3893
- HALADE, Ganesh V., Laurence M. BLACK a Mahendra Kumar VERMA, 2018. Paradigm shift – Metabolic transformation of docosahexaenoic and eicosapentaenoic acids to bioactives exemplify the promise of fatty acid drug discovery. *Biotechnology Advances* [online]. **36**(4), 935-953 [cit. 2021-04-30]. ISSN 07349750. Dostupné z: doi:10.1016/j.biotechadv.2018.02.014
- HANNA, Violette Said a Ebtisam Abdel Aziz HAFEZ, 2018. Synopsis of arachidonic acid metabolism: A review. *Journal of Advanced Research* [online]. **11**(11), 23-32 [cit. 2021-04-29]. ISSN 20901232. Dostupné z: doi:10.1016/j.jare.2018.03.005
- HOWITT, M. R., S. LAVOIE, M. MICHAUD et al., 2016. Tuft cells, taste-chemosensory cells, orchestrate parasite type 2 immunity in the gut. *Science* [online]. **351**(6279), 1329-1333 [cit. 2021-04-30]. ISSN 0036-8075. Dostupné z: doi:10.1126/science.aaf1648
- HWANG, Sung-Min, Gehoon CHUNG, Yong Ho KIM a Chul-Kyu PARK, 2019. The Role of Maresins in Inflammatory Pain: Function of Macrophages in Wound Regeneration. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. **20**(23) [cit. 2021-05-04]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms20235849
- CHANG, M.-K., C. BERGMARK, A. LAURILA, S. HORKKO, K.-H. HAN, P. FRIEDMAN, E. A. DENNIS a J. L. WITZTUM, 1999. Monoclonal antibodies against oxidized low-density lipoprotein bind to apoptotic cells and inhibit their phagocytosis by elicited macrophages: Evidence that oxidation-specific epitopes mediate macrophage recognition. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. **96**(11), 6353-6358 [cit. 2021-04-29]. ISSN 0027-8424. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.96.11.6353

- CHATTOPADHYAY, Rima, Somasundaram RAGHAVAN a Gadiparthi N. RAO, 2017. Resolvin D1 via prevention of ROS-mediated SHP2 inactivation protects endothelial adherens junction integrity and barrier function. *Redox Biology* [online]. **12**, 438-455 [cit. 2021-04-30]. ISSN 22132317. Dostupné z: doi:10.1016/j.redox.2017.02.023
- CHEN, Si-guo, Ji XIAO, Xie-hong LIU et al., 2010. Ibrrolipim increases ABCA1/G1 expression by the LXRA signaling pathway in THP-1 macrophage-derived foam cells. *Acta Pharmacologica Sinica* [online]. **31**(10), 1343-1349 [cit. 2021-04-29]. ISSN 1671-4083. Dostupné z: doi:10.1038/aps.2010.166
- CHIURCHIÙ, Valerio, Alessandro LEUTI, Jesmond DALLI, Anders JACOBSSON, Luca BATTISTINI, Mauro MACCARRONE a Charles N. SERHAN, 2016. Proresolving lipid mediators resolvin D1, resolvin D2, and maresin 1 are critical in modulating T cell responses. *Science Translational Medicine* [online]. **8**(353), 353111-353111 [cit. 2021-04-30]. ISSN 1946-6234. Dostupné z: doi:10.1126/scitranslmed.aaf7483
- JULIANA, Christine, Teresa FERNANDES-ALNEMRI, Seokwon KANG, Andrew FARIAS, Fengsong QIN a Emad S. ALNEMRI, 2012. Non-transcriptional Priming and Deubiquitination Regulate NLRP3 Inflammasome Activation\*. *Journal of Biological Chemistry* [online]. **287**(43), 36617-36622 [cit. 2021-04-29]. ISSN 00219258. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.M112.407130
- JULIEN, Olivier a James A WELLS, 2017. Caspases and their substrates. *Cell Death & Differentiation* [online]. **24**(8), 1380-1389 [cit. 2021-04-29]. ISSN 1350-9047. Dostupné z: doi:10.1038/cdd.2017.44
- KARASAWA, Tadayoshi a Masafumi TAKAHASHI, 2017. Role of NLRP3 Inflammasomes in Atherosclerosis. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis* [online]. **24**(5), 443-451 [cit. 2021-04-29]. ISSN 1340-3478. Dostupné z: doi:10.5551/jat.RV17001
- KARASAWA, Tadayoshi a Masafumi TAKAHASHI, 2017. The crystal-induced activation of NLRP3 inflammasomes in atherosclerosis. *Inflammation and Regeneration* [online]. **37**(1) [cit. 2021-04-29]. ISSN 1880-8190. Dostupné z: doi:10.1186/s41232-017-0050-9
- KIBEL, Aleksandar, Ana Marija LUKINAC, Vedran DAMBIC, Iva JURIC, Kristina SELTHOFER-RELATIC a Andreas DAIBER, 2020. Oxidative Stress in Ischemic Heart Disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* [online]. **2020**, 1-30 [cit. 2021-05-02]. ISSN 1942-0994. Dostupné z: doi:10.1155/2020/6627144
- KOJIMA, Yoko, Jens-Peter VOLKMER, Kelly MCKENNA et al., 2016. CD47-blocking antibodies restore phagocytosis and prevent atherosclerosis. *Nature* [online]. **536**(7614), 86-90 [cit. 2021-04-29]. ISSN 0028-0836. Dostupné z: doi:10.1038/nature18935
- KRAFT, Jamie D., Robert BLOMGRAN, Iben LUNDGAARD, Marianne QUIDING-JÄRBRINK, Jonathan S. BROMBERG a Emma BÖRGESON, 2021. Specialized Pro-Resolving Mediators and the Lymphatic System. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. **22**(5) [cit. 2021-05-12]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms22052750
- KUMAR, Sandeep, Chan Woo KIM, Rachel D. SIMMONS a Hanjoong JO, 2014. Role of Flow-Sensitive microRNAs in Endothelial Dysfunction and Atherosclerosis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* [online]. **34**(10), 2206-2216 [cit. 2021-05-02]. ISSN 1079-5642. Dostupné z: doi:10.1161/ATVBAHA.114.303425
- LAGUNA-FERNANDEZ, Andres, Antonio CHECA, Miguel CARRACEDO et al., 2018. ERV1/ChemR23 Signaling Protects Against Atherosclerosis by Modifying Oxidized Low-Density Lipoprotein Uptake and Phagocytosis in Macrophages. *Circulation* [online]. **138**(16), 1693-1705 [cit. 2021-04-30]. ISSN 0009-7322. Dostupné z: doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.117.032801

- LINTON, MacRae F., Vladimir R. BABAIEV, Jiansheng HUANG, Edward F. LINTON, Huan TAO a Patricia G. YANCEY, 2016. Macrophage Apoptosis and Efferocytosis in the Pathogenesis of Atherosclerosis. *Circulation Journal* [online]. **80**(11), 2259-2268 [cit. 2021-04-29]. ISSN 1346-9843. Dostupné z: doi:10.1253/circj.CJ-16-0924
- LU, Alvin, Venkat Giri MAGUPALLI, Jianbin RUAN et al., 2014. Unified Polymerization Mechanism for the Assembly of ASC-Dependent Inflammasomes. *Cell* [online]. **156**(6), 1193-1206 [cit. 2021-04-29]. ISSN 00928674. Dostupné z: doi:10.1016/j.cell.2014.02.008
- MALEKMOHAMMAD, Khojasteh, Robert D. E. SEWELL a Mahmoud RAFIEIAN-KOPAEI, 2019. Antioxidants and Atherosclerosis: Mechanistic Aspects. *Biomolecules* [online]. **9**(8) [cit. 2021-05-02]. ISSN 2218-273X. Dostupné z: doi:10.3390/biom9080301
- MARTINON, Fabio, Kimberly BURNS a Jürg TSCHOPP, 2002. The Inflammasome. *Molecular Cell* [online]. **10**(2), 417-426 [cit. 2021-04-29]. ISSN 10972765. Dostupné z: doi:10.1016/S1097-2765(02)00599-3
- MATZINGER, P, 1994. Tolerance, Danger, and the Extended Family. *Annual Review of Immunology* [online]. **12**(1), 991-1045 [cit. 2021-04-29]. ISSN 0732-0582. Dostupné z: doi:10.1146/annurev.iy.12.040194.005015
- MITCHELL, Jane A a Nicholas S KIRKBY, 2019. Eicosanoids, prostacyclin and cyclooxygenase in the cardiovascular system. *British Journal of Pharmacology* [online]. **176**(8), 1038-1050 [cit. 2021-04-30]. ISSN 0007-1188. Dostupné z: doi:10.1111/bph.14167
- MOLFINO, Alessio, Maria Ida AMABILE, Massimo MONTI a Maurizio MUSCARITOLI, 2017. Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids in Critical Illness: Anti-Inflammatory, Proresolving, or Both?. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* [online]. **2017**, 1-6 [cit. 2021-04-29]. ISSN 1942-0900. Dostupné z: doi:10.1155/2017/5987082
- MOORE, Kathryn J., Frederick J. SHEEDY a Edward A. FISHER, 2013. Macrophages in atherosclerosis: a dynamic balance. *Nature Reviews Immunology* [online]. **13**(10), 709-721 [cit. 2021-04-29]. ISSN 1474-1733. Dostupné z: doi:10.1038/nri3520
- NANDI, Ankita, Liang-Jun YAN, Chandan Kumar JANA a Nilanjana DAS, 2019. Role of Catalase in Oxidative Stress- and Age-Associated Degenerative Diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* [online]. **2019**, 1-19 [cit. 2021-05-21]. ISSN 1942-0900. Dostupné z: doi:10.1155/2019/9613090
- NATHAN, Carl, 2002. Points of control in inflammation. *Nature* [online]. **420**(6917), 846-852 [cit. 2021-04-30]. ISSN 0028-0836. Dostupné z: doi:10.1038/nature01320
- PANIGRAHY, D., B. T. KALISH, S. HUANG et al., 2013. Epoxyeicosanoids promote organ and tissue regeneration. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. **110**(33), 13528-13533 [cit. 2021-04-30]. ISSN 0027-8424. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.1311565110
- PAVELKA, Jan, 2010. *N-3 polynenasycené mastné kyseliny v prevenci kardiovaskulárních onemocnění*. Praha. Diplomová práce. Univerzita Karlova, 3. lékařská fakulta.
- PERROTTA, Ida a Saveria AQUILA, 2015. The Role of Oxidative Stress and Autophagy in Atherosclerosis. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* [online]. **2015**, 1-10 [cit. 2021-05-02]. ISSN 1942-0900. Dostupné z: doi:10.1155/2015/130315

- PIRAULT, John a Magnus BÄCK, 2018. Lipoxin and Resolvin Receptors Transducing the Resolution of Inflammation in Cardiovascular Disease. *Frontiers in Pharmacology* [online]. **9** [cit. 2021-04-30]. ISSN 1663-9812. Dostupné z: doi:10.3389/fphar.2018.01273
- POZNYAK, Anastasia V., Andrey V. GRECHKO, Varvara A. OREKHOVA, Yegor S. CHEGODAEV, Wei-Kai WU a Alexander N. OREKHOV, 2020. Oxidative Stress and Antioxidants in Atherosclerosis Development and Treatment. *Biology* [online]. **9**(3) [cit. 2021-05-02]. ISSN 2079-7737. Dostupné z: doi:10.3390/biology9030060
- RAJAMÄKI, Kristiina, Jani LAPPALAINEN, Katariina ÖÖRNI, Elina VÄLIMÄKI, Sampsa MATIKAINEN, Petri T. KOVANEN, Kari K. EKLUND a Derya UNUTMAZ, 2010. Cholesterol Crystals Activate the NLRP3 Inflammasome in Human Macrophages: A Novel Link between Cholesterol Metabolism and Inflammation. *PLoS ONE* [online]. **5**(7) [cit. 2021-04-29]. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0011765
- SAKAKURA, Kenichi, Masataka NAKANO, Fumiyuki OTSUKA, Elena LADICH, Frank D. KOLODZIE a Renu VIRMANI, 2013. Pathophysiology of Atherosclerosis Plaque Progression. *Heart, Lung and Circulation* [online]. **22**(6), 399-411 [cit. 2021-04-29]. ISSN 14439506. Dostupné z: doi:10.1016/j.hlc.2013.03.001
- SALVESEN, Guy S. a Avi ASHKENAZI, 2011. SnapShot: Caspases. *Cell* [online]. **147**(2), 476-4761 [cit. 2021-04-29]. ISSN 00928674. Dostupné z: doi:10.1016/j.cell.2011.09.030
- SATISH, Mohan a Devendra K AGRAWAL, 2018. Pro-resolving lipid mediators in the resolution of neointimal hyperplasia pathogenesis in atherosclerotic diseases. *Expert Review of Cardiovascular Therapy* [online]. **17**(3), 177-184 [cit. 2021-04-30]. ISSN 1477-9072. Dostupné z: doi:10.1080/14779072.2019.1563483
- SERHAN, Charles N., 2014. Pro-resolving lipid mediators are leads for resolution physiology. *Nature* [online]. **510**(7503), 92-101 [cit. 2021-04-30]. ISSN 0028-0836. Dostupné z: doi:10.1038/nature13479
- SERHAN, Charles N., Nan CHIANG a Thomas E. VAN DYKE, 2008. Resolving inflammation: dual anti-inflammatory and pro-resolution lipid mediators. *Nature Reviews Immunology* [online]. **8**(5), 349-361 [cit. 2021-04-30]. ISSN 1474-1733. Dostupné z: doi:10.1038/nri2294
- SHAO, Bo-zong, Bin-ze HAN, Yan-xia ZENG, Ding-feng SU a Chong LIU, 2016. The roles of macrophage autophagy in atherosclerosis. *Acta Pharmacologica Sinica* [online]. **37**(2), 150-156 [cit. 2021-04-29]. ISSN 1671-4083. Dostupné z: doi:10.1038/aps.2015.87
- SIMONETTO, Marialaura, Marco INFANTE, Ralph L. SACCO, Tatjana RUNDEK a David DELLA-MORTE, 2019. A Novel Anti-Inflammatory Role of Omega-3 PUFAs in Prevention and Treatment of Atherosclerosis and Vascular Cognitive Impairment and Dementia. *Nutrients* [online]. **11**(10) [cit. 2021-04-29]. ISSN 2072-6643. Dostupné z: doi:10.3390/nu11102279
- TABAS, Ira, 2016. Death-defying plaque cells. *Nature* [online]. **536**(7614), 32-33 [cit. 2021-04-29]. ISSN 0028-0836. Dostupné z: doi:10.1038/nature18916
- USUI, Fumitake, Koumei SHIRASUNA, Hiroaki KIMURA et al., 2012. Critical role of caspase-1 in vascular inflammation and development of atherosclerosis in Western diet-fed apolipoprotein E-deficient mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications* [online]. **425**(2), 162-168 [cit. 2021-04-29]. ISSN 0006291X. Dostupné z: doi:10.1016/j.bbrc.2012.07.058

- VAN OPDENBOSCH, Nina a Mohamed LAMKANFI, 2019. Caspases in Cell Death, Inflammation, and Disease. *Immunity* [online]. **50**(6), 1352-1364 [cit. 2021-04-29]. ISSN 10747613. Dostupné z: doi:10.1016/j.immuni.2019.05.020
- VARGHESE, Johnna F., Rohit PATEL a Umesh C.S. YADAV, 2018. Novel Insights in the Metabolic Syndrome-induced Oxidative Stress and Inflammation-mediated Atherosclerosis. *Current Cardiology Reviews* [online]. **14**(1), 4-14 [cit. 2021-05-02]. ISSN 1573403X. Dostupné z: doi:10.2174/1573403X13666171009112250
- WANG, Tianqi, Xianjun FU, Qingfa CHEN, Jayanta Kumar PATRA, Dongdong WANG, Zhenguo WANG a Zhibo GAI, 2019. Arachidonic Acid Metabolism and Kidney Inflammation. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. **20**(15) [cit. 2021-04-29]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms20153683
- YAMAGATA, Kazuo, 2017. Docosahexaenoic acid regulates vascular endothelial cell function and prevents cardiovascular disease. *Lipids in Health and Disease* [online]. **16**(1) [cit. 2021-04-29]. ISSN 1476-511X. Dostupné z: doi:10.1186/s12944-017-0514-6
- ZAHID, Ayesha, Bofeng LI, Arnaud John Kombe KOMBE, Tengchuan JIN a Jinhui TAO, 2019. Pharmacological Inhibitors of the NLRP3 Inflammasome. *Frontiers in Immunology* [online]. **10** [cit. 2021-04-29]. ISSN 1664-3224. Dostupné z: doi:10.3389/fimmu.2019.02538
- ZHOU, Rongbin, Amir S. YAZDI, Philippe MENU a Jürg TSCHOPP, 2011. A role for mitochondria in NLRP3 inflammasome activation. *Nature* [online]. **469**(7329), 221-225 [cit. 2021-04-29]. ISSN 0028-0836. Dostupné z: doi:10.1038/nature09663