

NOVÉ MARKERY KARDIOVASKULÁRNÍHO RIZIKA

RNDr. Milada Dobiášová, DrSc.

Fyziologický ústav Akademie věd České republiky, Praha

Klasické markery kardiovaskulárního rizika odhalují asi jen 50 % těch, kteří skutečně riziko mají. Proto se zvyšuje úsilí najít biomarker, který by přesněji ukázal na riziko a také byl schopen monitorovat účinnost léčby. Zatím se nepodařilo najít jedinečný marker, nezávislý na ostatních kvůli multifaktoriálnímu charakteru onemocnění, a tak se hledají kombinace biochemických a zobrazovacích markerů, které by zvýšily předpovědní hodnotu základního stanovení. Výběr není snadný, protože už je evidováno nejméně 200 novějších krevních biomarkerů. Při tom integrovaný biomarker musí splňovat kritéria citlivosti, specifity, spolehlivosti, cenové dostupnosti a také srozumitelnosti pro lékaře i pacienta. Určitou perspektivu má podrobná analýza lipoproteinového profilu plazmy. Většina demografických a klinických, stejně jako biochemických ukazatelů se odráží v lipoproteinovém profilu plazmy – ve specifickém složení jejich subpopulací. Tyto údaje je dnes možné změřit i když technicky náročně a ekonomicky nákladně, ale jejich vyhodnocení v praxi nelze uskutečnit. V tomto článku jsou uvedeny dvě možnosti, jak popsat jedním číslem lipoproteinový profil plazmy nezávisle na koncentraci cholesterolu: 1. Frakční esterifikační rychlost cholesterolu (FER_{HDL}), jako nezávislý funkční marker heterogenity lipoproteinových subpopulací. 2. Aterogenní index plazmy (AIP), logaritmus poměru triglyceridů k HDL-cholesterolu. Kalkulátor AIP (www.biomed.cas.cz/fgu/aip; www.athero.cz), který vysoce koreluje s FER_{HDL} , je dostupný všem praktickým lékařům a je vhodný i k monitorování léčby.

Klíčová slova: biomarker kardiovaskulárního rizika, frakční esterifikační rychlost cholesterolu (FER_{HDL}), aterogenní index plazmy (AIP), subpopulace LDL, HDL a VLDL lipoproteinů.

Med. Pro Praxi 2007; 4(11): 464–468

Kardiovaskulární onemocnění (KVO) je hlavní příčinou smrti v Evropě a Spojených státech a komplikace aterosklerózy představují prudký nárůst morbidit a mortality také v rozvojových zemích. Proto je prevence a léčba KVO jedním z nejdůležitějších celosvětových problémů a stanovení globálního rizika je nezbytné pro přesnou předpověď rizika a pro vývoj odpovídajících léčebných strategií potřebných pro modifikaci rizika a pro prevenci KVO u pacientů se středním rizikem. Je totiž známo, že jednomu nebo více ze čtyř tradičních modifikovatelných rizikových faktorů, jimiž jsou hypertenze, kouření, hypercholesterolemie a diabetes, je vystaveno více než polovina subjektů, u nichž se ischemická choroba nerozvinula. Letošní berlínská konference (2nd International Symposium „Integrated biomarkers in cardiovascular diseases“, Berlin), v pořadí už druhá, jednala o strategii hledání integrovaných biomarkerů u kardiovaskulárních onemocnění. Položila důraz na spolupráci vědců s lékaři při hledání nových biomarkerů a jejich kombinací, které by zvýšily informační hodnotu především o individuálním riziku. Ideální biomarker by měl být vysoce citlivý, specifický, spolehlivý, standardizovaný, cenově dostupný a lékaři snadno interpretovatelný (10).

Nové biomarkery

Vzhledem ke komplexní patofyziologii aterosklerózy s následujícím KVO, je obtížné najít jedinečný biomarker, který by splňoval všechny požadavky, a tak řada doporučení navrhuje jako efektivní řešení kombinaci biomarkerů, tzv. integrované biomarkery. Jeden z nejslibnějších přístupů je kombinace

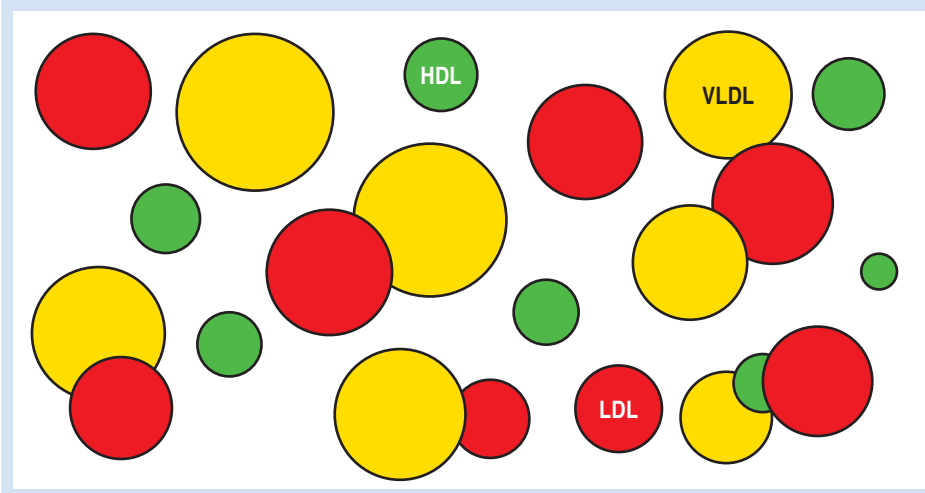
biochemických markerů a zobrazovacích markerů, které zobrazují atherotrombotické vlastnosti cév, jako je kalcifikace, lumenální stenóza a složení plaků kvůli prognóze jejich ruptury. V primární prevenci jsou tradiční rizikové faktory prvním stupněm stanovujícím „kdo má KV riziko“. Při stanovení „globálního rizika“ mohou být použita skóre odvozená z vícerozměrných statistických modelů jako je Framinghamské skóre, PROCAM skóre nebo SCORE Evropské kardiologické společnosti. Ovšem podstatná část těch, kteří mají KV riziko (asi 60 %), nemůže být identifikována na základě tradičních rizikových faktorů (9). Stanovení tradičních rizikových faktorů dovoluje kategorizaci podle Framinghamského bodového skóre na vysoké riziko (10leté riziko > 20 %), nízké (10leté riziko < 10 %) nebo střední (10leté riziko 10–20 %). Subjektům s vysokým rizikem se proto doporučuje změna životního stylu, případně statiny, těm s nízkým rizikem kontrola po 3 až 5 letech a ti se středním rizikem jsou kandidáti pro další testování (9). V ČR není situace tak pesimistická, protože také osoby se středním rizikem jsou kandidáty režimových opatření. Podle v ČR platných tabulek SCORE se rozlišují kategorie vysokého rizika KV úmrtí při 10letém riziku > 5 %, střední riziko 3–4 %, nízké riziko 1–2 %. Přesto i tady chybí indikátor individuálního rizika.

Přes velký počet (asi 200) novějších krevních biomarkerů jsou jen některé vhodné pro rutinní klinické použití. Jedním z novějších biomarkerů doporučených pro standardní využití je vysoce senzitivní C-reaktivní protein (hsCRP) jako systémový indikátor zánětu, který nekoreluje s parametry lipoproteinů, a proto zvyšuje prognostickou hodnotu základního

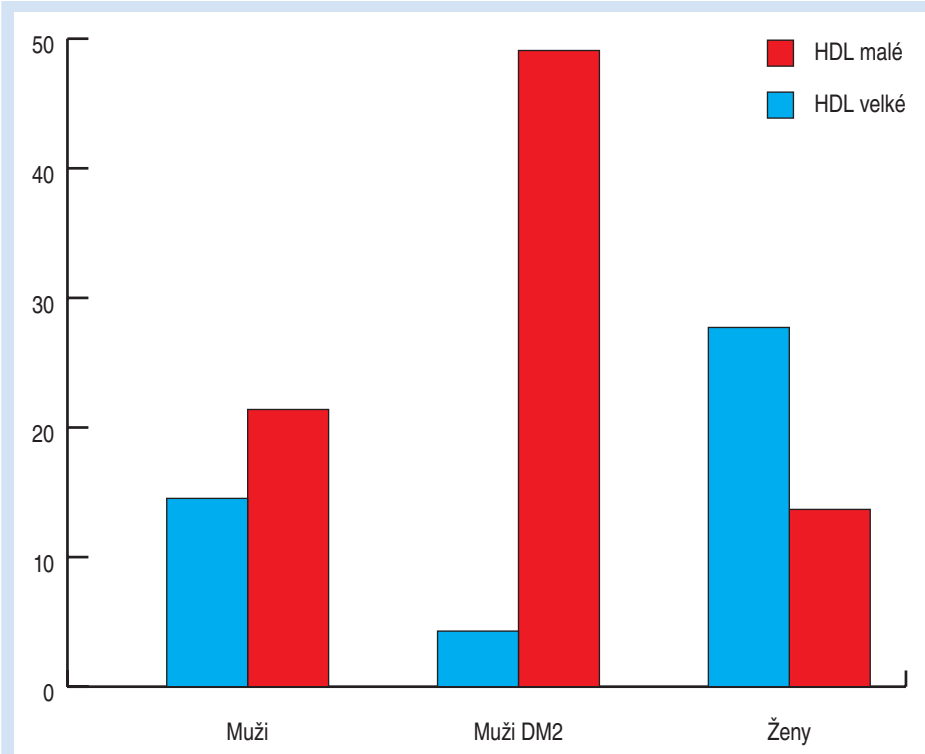
stanovení zejména v přítomnosti zvýšené tloušťky intimy – medie (IMT) vyšetřené ultrazvukem. Avšak otázka, zda může hsCRP také monitorovat výsledky léčby, zůstává otevřená (8).

Jiné kombinace krevních biomarkerů a dalších neinvazivních zobrazovacích metod podrobné testování teprve čeká. Cesta nových biomarkerů do oficiálních guidelines však není snadná, jak ukazuje historie apoB. Až dosud se klinická péče zaměřuje především na LDL-cholesterol, jednak díky úspěchu velkých studií při snižování LDL-C, ale také neúspěchu při snižování triglyceridů a zvyšování HDL cholesterolu. Při tom už několik studií ukázalo, že apoB nebo apoB/apoA1 jsou lepší indikátory než LDL cholesterol (12, 13). Vysvětlení spočívá v heterogenitě lipoproteinu: apoB se váže k makromolekulám LDL v molárním poměru 1 : 1, proto při převaze vysoce aterogenních malých denzních LDL aktuální koncentrace apoB roste, zatímco koncentrace cholesterolu v LDL není na velikosti makromolekul závislá. Základní lipoproteiny, které se liší hustotou a afinitou k specifickým apoproteínům (LDL – apoB, HDL – apoA1/II) jsou heterogenním seskupením subpopulací různé velikosti (obrázek 1). Nejen subpopulace LDL, ale také HDL mají v procesu endogenního transportu cholesterolu svou specifickou funkci a nesou odlišný aterogenní potenciál. Tento fenomén bude nutné brát v úvahu také při hledání nových farmakologických strategií, kdy je nutné sledovat vliv léku nejen na koncentraci cholesterolu v LDL či HDL, ale také na změny v rozložení subpopulací v profilu plazmy. Dokladem je, že ani masivní zvýšení hladin HDL cholesterolu a snížení LDL cholesterolu nemu-

Obrázek 1. Lipoproteinový profil plazmy tvoří subpopulace VLDL, HDL, LDL o různé velikosti



Graf 1. HDL protektivní a rizikové částice



sí zastavit aterogenní proces, jak ukázala nedávná studie s inhibitorem cholesteryl ester transfering proteinu (CETP) torcetrapibem (11).

Které subpopulace lipoproteinů mají aterogenní a neaterogenní potenciál?

Klasickou představu o hodném cholesterolu v HDL a zlém cholesterolu v LDL narušuje fakt, že obě velké rodiny lipoproteinů obsahují subpopulace různé velikosti, na nichž záleží, kde bude náklad cholesterolu vyložen, zda v aterogenní nebo neaterogenní destinaci (tabulka 1). Malé LDL částice přenášejí cholesterol k nejvíce rizikovým cílům v cévních stěnách, zatímco velké částice LDL představují riziko poněkud menší. Aterogenním prvkem je pro-

tein apoB100, který je v malých denzních částicích LDL obsažen ve zvýšené koncentraci. Také rodina HDL, která je složena z různě velkých subpopulací není zcela bez KV rizika. Velké HDL, obsahující více apoproteinu AI než ostatní HDL částice, jsou jednoznačně protektivní, protože přenášejí cholesterolový náklad z krve k cílovým destinacím převážně v jaterních buňkách k dalšímu zpracování na hormony, nebo do vylučovacího procesu. Avšak malé částice HDL (mají méně apoproteinu AI a více apoproteinu AII) se mohou chovat dvojím způsobem díky jedinečnému biochemickému zařízení na výrobu cholesteryl esterů (CE).

Cholesterol estery, které tvoří dvě třetiny celkového cholesterolu v plazmatických lipoproteinech, jsou u lidí prakticky všechny produkovány v plazmě

Tabulka 1. Velikost subpopulací lipoproteinů a aterogenní riziko

	Aterogenní	Neaterogenní
HDL	 Malé částice	 Velké částice
LDL	 25,5 nm – B profil Malé denzní	 25,5 nm – A profil Velké částice
VLDL	 Velké částice	 Malé částice

působením enzymu lecithin cholesterol acyltransferázy (LCAT). Pouze specifická konfigurace dvojvrstev fosfolipidů, cholesterolu a apoAI v malých HDL lipoproteinech je lokalita, v níž může LCAT efektivně přenášet acyly mastných kyselin z lecithinu na cholesterol. Ostatní subpopulace HDL, a už vůbec ne LDL, tuto možnost nenabízejí. Při rovnováze mezi přívodem volného cholesterolu z periferních buněk (reverzní transport cholesterolu) a produkcí cholesteryl esterů, které z plazmy odvádějí velké HDL, aterogenní riziko nehrozí. Za situace, kdy je blokován reverzní transport cholesterolu zvýšenou hladinou LDL, enzym LCAT využije k esterifikaci cholesterol, který je v plazmě k dispozici, ať už pochází z kteréhokoliv lipoproteinu. Je totiž prokázáno, že výměna volného cholesterolu mezi lipoproteiny plazmy není vázána na přítomnost proteinového nosiče CETP, jak je tomu u esterifikovaného cholesterolu. Potom dochází k nadprodukci CE, které svázané s CETP nastupují do aterogenního cyklu přes VLDL – malé denzní LDL do periferních tkání. Směr a rychlost pohybu endogenního cholesterolu jsou tedy určovány souhrou celého spektra lipoproteinových subpopulací, které mají své specifické úkoly. Některé výsledky ukazují, že jsou změny ve spektru jednotlivých lipoproteinů vzájemně spojeny. Prevalence malých denzních LDL částic pod 25,5 nm charakterizuje aterogenní typ plazmy B, zatímco prevalence větších částic přísluší neaterogennímu typu A. Zatímco nejmenší částice jak HDL, tak i LDL patří k aterogennímu typu, u VLDL jsou to naopak velké částice, které jsou nositelem aterogenicity (tabulka 1).

Lipoproteinový profil plazmy reflektuje řadu demografických, klinických a biochemických rizikových markerů jako je pohlaví, věk, nadváha, krevní tlak, diabetes mellitus 2. typu, inzulinová rezistence apod. Byly shromážděny údaje o koncentracích subpopulací lipoproteinů u subjektů s různým KV rizikem: děti, zdravé pre-menopauzální ženy, dlouholetí muži (5) mají vyšší koncentraci velkých HDL a nižší malých HDL než muži středního věku, post-menopauzální ženy. Velkých HDL ubývá a malých přibývá při

Tabulka 2. Korelace mezi biomarkery FER_{HDL} (%/h) a AIP a velikostí lipoproteinů (r)

Velikost (nm)	FER_{HDL} (%/h)	AIP
VLDL	0,491***	0,395***
LDL	-0,707***	-0,681***
HDL	-0,572***	-0,546***

Tabulka 3. Korelace AIP s rizikovými biochemickými a klinickými parametry (r)

(r)		
ApoB	0,205(**)	Obezita ***
ApoCIII	0,805(**)	Obvod pasu ***
ApoE	0,664(**)	DM 2.typu ***
ApoAII	-0,240(**)	Insulin.rezist. ***
ApoAII	0,047	Metabolický sy. ***
TC	0,074	KVO ***

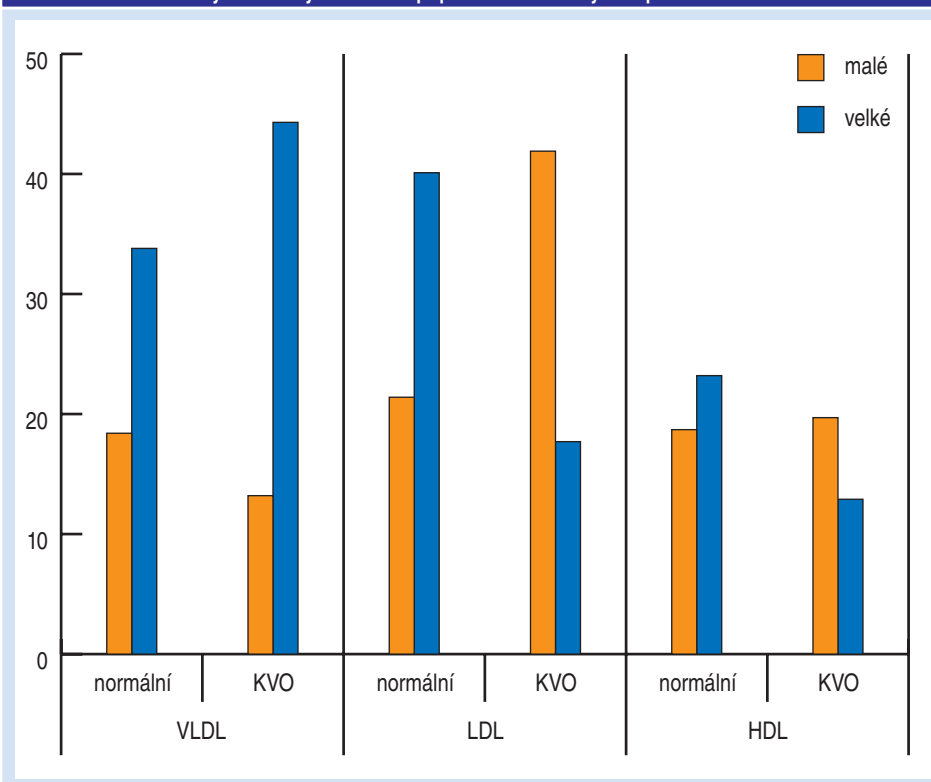
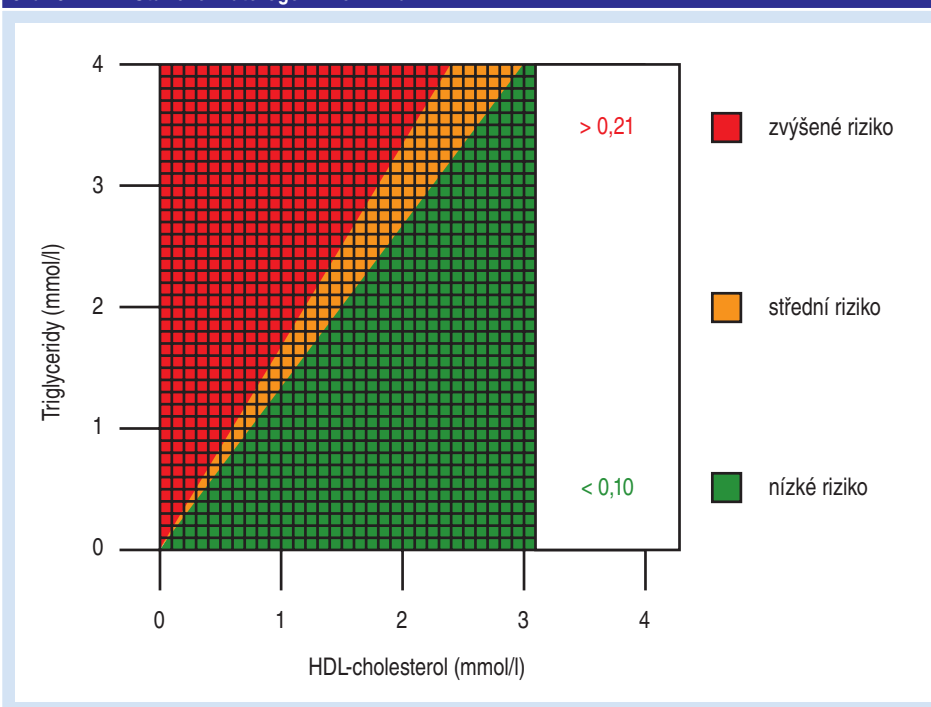
nadváze, hypertenzi, diabetes mellitus 2. typu a KV onemocnění (graf 1). Malé denzní částice LDL jsou charakteristické pro vysoce rizikové stavy jako diabetes mellitus 2. typu a samozřejmě KV onemocnění. V grafu 2 jsou uvedeny rozdíly v distribuci malých a velkých subpopulací VLDL, LDL a HDL u zdravých lidí a pacientů s KVO. U pacientů s KVO dvojnásobně roste populace velkých aterogenních VLDL částic zatímco velké protektivní LDL a HDL klesají na polovinu. Hypolipidemická terapie (1) má také významný vliv na změny ve velikosti jejich subpopulací.

Jaká je informační hodnota lipoproteinového profilu pro praxi?

Využití informací o lipoproteinovém profilu plazmy a jeho změnách pro vyhodnocení KV rizika v klinické praxi je omezeno metodami stanovení velikosti subpopulací, které jsou technicky náročné a ekonomicky velmi nákladné. Další překážkou je interpretace řady číselných výsledků o subpopulacích, které nelze popsat jedním číslem. To umožňují testy Frakční esterifikační rychlost cholesterolu (FER_{HDL}) a Aterogenní index plazmy (AIP).

FER_{HDL} (6) je nezávislý funkční marker heterogenity lipoproteinových subpopulací. Je mírou rychlosti esterifikace cholesterolu, která je řízena velikostí částic HDL a která vysoce významně koreluje inverzně s velikostí částic HDL, LDL a pozitivně s velikostí VLDL, a tak poskytuje informaci o zastoupení aterogenních a protektivních složek lipoproteinů v plazmě (tabulka 2). Klinická hodnota tohoto biomarkery byla dokumentována v nedávných studiích jako nejvýznamnější prediktor pozitivního angiografického nálezu ze 12 biochemických a klinických ukazatelů (7) a jako jeden z nejlepších markerů kvantitativních změn koronárních lézí v HDL-Atherosclerosis Treatment Study (1). Nevýhodou stanovení FER_{HDL} je izotopová laboratorní metoda využívající k detekci rychlosti esterifikace $3H$ -cholesterol.

Dalším indikátorem nové generace je AIP, aterogenní index plazmy vypočítaný jako logaritmus

Graf 2. Distribuce malých a velkých částic lipoproteinů u zdravých a pacientů s KVO**Graf 3. AIP – Stanovení aterogenního rizika**

poměru molárních koncentrací plazmatických triglyceridů a HDL-cholesterolu ($\text{Log}(TG/HDL-C)$), který úzce souvisí s FER_{HDL} a tím s velikostí částic lipoproteinů (4). Je to logické vyústění faktu, že regulace velikosti lipoproteinových subpopulací je spojena především s triglyceridy, kdy působením lipoproteinové a hepatické lipázy jsou remodelovány HDL a poměr malých a velkých HDL makromolekul zpomaluje nebo zrychluje esterifikační rychlost cholesterolu,

kteřá je tak biochemickým a funkčním indikátorem jejich velikosti (2). AIP je biomarker, jehož prediktivní hodnota je velmi podobná FER_{HDL} (7) při vysoké statistické významnosti ($r = 0,8$, $P < 0,00001$). Stejně jako FER_{HDL} pozitivně koreluje s velkými aterogenními částicemi VLDL a inverzně koreluje s velkými protektivními částicemi LDL a HDL (tabulka 2). Korelace AIP s celkovým nebo LDL cholesterolem je nízká, třebaže s mnoha laboratorními a klinickými

mi parametry úzce souvisí (tabulka 3). Poměr TG a HDL-C v AIP také reflektuje nerovnováhu mezi rizikovými a protektivními složkami lipoproteinů, která se uplatňuje i při normálních hladinách cholesterolu. Na základě hodnocení 32 souborů (asi 9000 lidí) s různým stupněm KV rizika byla stanovena kritéria pro jeho kategorizaci (3, 14): nízké riziko: $AIP \leq 0,1$, střední riziko: $AIP > 0,1$ a $< 0,21$ a zvýšené riziko: $AIP > 0,21$ (graf 3).

Závěr

Hledání nových integrovaných biomarkerů přispěje k přesnějšímu určení KV rizika především u té poloviny populace, u níž se většina typických ukazatelů rizika pohybuje v rozmezí normálních hodnot. Aplikace AIP poskytuje informaci o stavu lipoproteinového profilu plazmy nezávisle na koncentraci cholesterolu. Důležitou předností AIP je jeho snadná dostupnost a ekonomická nenáročnost v určování KV

rizika nebo monitorování účinnosti farmakologické intervence.

*Poděkování Ministerstvu zdravotnictví ČR
grant NA/6590–3.*

RNDr. Milada Dobiášová, DrSc.

Fyziologický ústav Akademie věd České republiky
Vítěňská 1083, 142 20 Praha 4 Krč
e-mail: dobias@biomed.cas.cz

Literatura

1. Brown BG, Xue-Qiao Zhao, Chait A, Fisher LD, Cheung MC, Morse JS et al. Simvastatin and Niacin, antioxidant vitamins, or the combination for the prevention of coronary disease. *N Engl J Med* 2001; 345: 1583–1592.
2. Dobiášová M. Atherogenic index of plasma [Log (triglycerides/HDL/cholesterol): Theoretical and practical implications. *Clin Chem* 2004; 50: 113–115.
3. Dobiášová M, Frohlich J, Češka R, Mydlilová A, Piňha J, Plášková M, Poledne R, Rašlová K, Šamánek M, Urbanová Z, Vrablík M. Cardiovascular risk assessment by atherogenic index of plasma [LOG (TG/HDL-C)]. 2nd International Symposium „Integrated biomarkers in cardiovascular diseases“, Berlin, 2007.
4. Dobiášová M, Frohlich J. The plasma parameter log (TG/HDL-C) as an atherogenic index: correlation with lipoprotein particle size and esterification rate in apoB-lipoprotein-depleted plasma (FER_{HDL}). *Clinical Biochemistry* 2001; 34: 583–588.
5. Dobiášová M, Stříbrná J, Pritchard PH, Frohlich J. Cholesterol esterification rate in plasma depleted of very low and low density lipoproteins is controlled by the proportion of HDL2 and HDL3 subclasses: study in hypertensive and normal middle-aged and septuagenarian men. *J Lipid Res* 1992; 33: 1411–1418.
6. Dobiášová M, Stříbrná J, Sparks DL, Pritchard PH, Frohlich J. Cholesterol Esterification Rates in Very Low Density Lipoprotein- and Low Density Lipoprotein- Depleted Plasma: Relation to High Density Lipoprotein Subspecies, Sex, Hyperlipidemia and Coronary Artery Disease. *Arterioscler. Thromb.* 1991; 11: 64–70.
7. Frohlich J, Dobiášová M. Fractional esterification rate of cholesterol and ratio of triglycerides to HDL-cholesterol are powerful predictors of positive findings on coronary angiography. *Clin Chem* 2003; 49: 1873–1880.
8. Kaski JC. Biomarkers of inflammation as markers of treatment outcome. 2nd International Symposium „Integrated biomarkers in cardiovascular diseases“, Berlin, 2007.
9. Koenig W. The integrated biomarkers approach: added value in primary and secondary prevention? 2nd International Symposium „Integrated biomarkers in cardiovascular diseases“, Berlin, 2007.
10. Marcovina SM, Crea G, Avignon J, Kaski JC, Koenig W, Landmesser U, Pieri PL et al. Biochemical and biomarker markers for assessment and diagnosis in major cardiovascular diseases: a road to integration of complementary diagnostic tools. *J Intern Med* 2007; 261: 214–234.
11. Nissen SE, Tardif J, Nicholls SJ et al. Effect of Torcetrapib on the Progression of Coronary Atherosclerosis. *N Eng J Med* 2007; 356: 1304–1316.
12. Sniderman AD. Assessing LDL lowering therapy. 2nd International Symposium „Integrated biomarkers in cardiovascular diseases“, Berlin, 2007.
13. Walldius G, Jungner I, Holme I, Aastveit AH, Kolar W, Steiner E. High apolipoprotein B, low apolipoprotein A-I, and improvement in the prediction of fatal myocardial infarction (AMORIS study): a prospective study. *Lancet.* 2001; 358(9258): 2026–2033.
14. www.biomed.cas.cz/tgu/aip, www.athero.cz.