

NOVÉ PODNĚTY Z KONFERENCÍ O INTEGROVANÝCH BIOMARKERECH KARDIOVASKULÁRNÍCH ONEMOCNĚNÍ

M. Dobiášová

Souhrn

Lipoproteinový profil má rozhodující význam pro rozvoj aterosklerózy a následných kardiovaskulárních (KV) onemocnění. Rada demografických a klinických ukazatelů KV rizika, jako je pohlaví, věk, nadváha, krevní tlak, se odráží ve specifickém profilu lipoproteinů. Aterogenní profil je charakterizován zvýšenou koncentrací malých denzních LDL-částic a/nebo nedostatkem velkých HDL-částic a/nebo zvýšenou koncentrací velkých VLDL. Ovšem vyhodnocení KV-rizika pomocí různých velikých subpopulací lipoproteinů je v praxi ne snadné. Byly navrženy biomarkery kvality lipoproteinů, které charakterizují rozložení subpopulací: frakční esterifikační rychlost cholesterolu (FER_{HDL}) a aterogenní index plasmy (AIP), logaritmičsky transformovaný poměr molární koncentrace triglyceridů (TG) k HDL-cholesterolu. Tyto 2 parametry se ukázaly jako nejlepší prediktory pozitivního angiografického nálezu. AIP se zdá být použitelný v praxi jako jednoduchý, cenově dostupný biomarker lipoproteinového profilu. Podle AIP je možné KV-riziko zejména u smíšených dyslipidemií kategorizovat: nejnižší riziko představují hodnoty pod 0,11, střední riziko hodnoty mezi 0,11 a 0,21 a nejvyšší riziko hodnoty nad 0,21. AIP kalkulačka je umístěn na www.biomed.cas.cz/fgu/aip.

Klíčová slova

biomarker kardiovaskulárního rizika – frakční esterifikační rychlost cholesterolu (FER_{HDL}) – aterogenní index plasmy (AIP) – $\text{Log}(TG/HDL-C)$ – subpopulace lipoproteinů

Summary

New stimuli from the Integrated Biomarkers in Cardiovascular Diseases conference. The plasma lipoprotein profile has a crucial effect on the development of atherosclerosis and the resulting cardiovascular (CV) diseases. A number of demographic and clinical markers of CV risk such as sex, age, body mass, blood pressure and diabetes mellitus are reflected in a specific plasma lipoprotein profile. Atherogenic profile is characterized by increased concentrations of small dense LDL particles, and/or lack of large HDL particles, and/or increased concentrations of large VLDL particles. However, the evaluation of CV risk based on the complex of differently sized lipoprotein subpopulations is difficult in practice. There were proposed biomarkers of lipoprotein quality characterizing subpopulations distribution: Fractional Esterification Rate of cholesterol (FER_{HDL}) and Atherogenic Index of Plasma (AIP): a logarithmically transformed ratio of molar concentrations of triglycerides (TG) to HDL-cholesterol. These two parameters have shown to be the best predictors of findings on coronary angiography. AIP as a simple, inexpensive biomarker of lipoprotein profile seems to be suitable for practical use. AIP can differentiate CV risk categories, particularly in mixed dyslipidemia: the lowest risk is represented by values below 0.11, medium risk between 0.11 and 0.21, and high risk above 0.21. The AIP calculator is available on www.biomed.cas.cz/fgu/aip.

Key words

Biomarkers of cardiovascular risk – Fractional esterification rate of cholesterol (FER_{HDL}) – Atherogenic Index of Plasma (AIP – $\text{Log}(TG/HDL-C)$ – subpopulations of lipoproteins

dovoluje najít jedinečný nezávislý biomarker, který by identifikoval celkové riziko. Proto se soustřeďuje pozornost k integraci biochemických a zobrazovacích markerů v prevenci kardiovaskulárních onemocnění (KVO), jejich diagnóze a léčbě.

Konference o integrovaných biomarkerech

Toto téma bylo předmětem 1. a 2. mezinárodního symposia Integrated biomarkers in cardiovascular diseases v Luganu 2005 a v Berlíně 2007, pod záštitou Giovanni Lorenzini Medical Science Foundation Milano – Houston, za předsednictví prof. R. Paolettiho, kde se poprvé sešli vědci s lékaři, aby společně prodiskutovali a připravili cestu k integraci potenciálních biochemických a zobrazovacích markerů v praxi. Byla definována kritéria pro ideální biomarker: měl by být vysoce citlivý, specifický, spolehlivý, dostupný, standardizovaný, cenově dostupný a klinicky snadno interpretovatelný [1].

Jeden z nejslibnějších přístupů je kombinace biochemických markerů a zobrazovacích markerů, které zobrazují aterotrombotické vlastnosti cév jako je kalcifikace, lumenální stenóza a složení plaků kvůli prognóze jejich ruptury.

Tradiční rizikové faktory zůstávají i nadále prvním stupněm stanovení KV-rizika. Používají se 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%) nemohou být identifikováni na základě samotných tradičních rizikových faktorů. Stanovení tradičních rizikových faktorů dovoluje kategorizaci na vysoké riziko (10leté riziko > 20%), nízké (10leté riziko < 10%) nebo střední (10leté

Úvod

Prevence a léčba kardiovaskulárních (KV) onemocnění je jedním z nedůležitějších celosvětových medicínských problémů. Proto je nezbytné získat všechny dostupné údaje o celkovém KV-riziku pro prognózu onemocnění, pro vývoj odpovídajících léčebných strategií potřebných pro modifikaci rizika a pro prevenci onemocnění u pacientů se středním rizikem.

Je totiž známo, že 1 nebo více ze 4 tradičních modifikovatelných rizikových faktorů, jimiž jsou hypertenze, kouření, hypercholesterolemie a diabetes, je vystaveno více než polovina lidí, u nichž se ischemická choroba nerozvinula. Je proto nutné dále hledat nové biomarkery nebo jejich kombinace, které by zvýšily informační hodnotu o individuálním riziku. Komplexní patofyziologie aterosklerózy s následující CVD ne-

riziko 10–20%). Lidem s vysokým rizikem se doporučí změna životního stylu, případně statiny, lidem s nízkým rizikem kontrola po 3 až 5 letech a ti se středním rizikem jsou kandidáti pro další testování. Avšak přes velký počet (asi 200) novějších krevních biomarkerů jsou jen některé vhodné pro rutinní klinické použití. Jedním z novějších biomarkerů doporučených AHA/CDC (American Heart Association/Centers for Diseases Control and Prevention) pro standardní využití je C-reaktivní protein (CRP) 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. Jiné kombinace krevních biomarkerů a dalších neinvazivních zobrazovacích metod podrobné testování teprve čeká, i když cesta nových biomarkerů do oficiálních guidelines nebývá snadná, jak ukazuje historie apoB, který je lepším indikátorem rizika než celkový LDL-cholesterol. Zatím se klinická péče zaměřuje především na snižování LDL-cholesterolu, jednak díky úspěchu velkých studií při snižování LDL-C, jednak kvůli neúspěchu při snižování triglyceridů a zvyšování HDL-cholesterolu. Ani masivní zvýšení hladin HDL-cholesterolu a snížení LDL-cholesterolu nemusí však zastavit aterosenní proces, jak ukázala nedávná studie s inhibítorem cholesteryl ester transfering proteinu (CETP) torcetrapibem [2].

Příčinu je možné hledat ve změnách v lipoproteinovém profilu, které nutně nemění celkové koncentrace lipidů.

Lipoproteinové markery

Základní lipoproteiny plasmy, které se liší hustotou a afinitou k specifickým apoproteinům (LDL – apo B, HDL – apoA1/II, VLDL – apoC, ap B) jsou heterogenním seskupením subpopulací různé velikosti. Subpopulace LDL, HDL ale také VLDL mají v procesu endogenního transportu cholesterolu svou specifickou funkci a nesou odlišný aterosenní potenciál. Malé denzní LDL částice mají na rozdíl od velkých částic LDL výrazný aterosenní potenciál. Naopak mezi VLDL subpopulacemi jsou silně aterosenní velké částice. Také subpopulace HDL mají rozdílný aterosenní potenciál: velké částice jsou na rozdíl od malých prokazatelně více protektivní než částice malé. Aterosenní profil (typ B) je tedy charakterizován převahou malých denzních LDL částic, nedostatkem velkých HDL a zvýšenou koncentrací velkých VLDL. U neaterogenního profilu typu A je více velkých LDL a HDL a malých VLDL.

Na formování lipoproteinového profilu plasmy se podílí řada demografických, klinických a biochemických rizikových markerů, jako je pohlaví, věk, nadváha, krevní tlak, diabetes mellitus 2. typu, inzulinová rezistence apod. Byly shrnuty údaje o koncentracích subpopulací lipoproteinů u subjektů s různým KV-rizikem: děti, zdravé premenopauzální ženy a dlouhověcí muži mají vyšší koncentraci velkých HDL a nižší malých HDL než muži středního věku nebo postmenopauzální ženy. Velkých HDL ubývá a malých přibývá při nadváze, hypertenzi, diabetu mellitu 2. typu a KV-onemocnění. Malé denzní částice LDL jsou charakteristické pro vysoce rizikové stavy jako diabetes mellitus 2. typu a samozřejmě KV-onemocnění. U pacientů s KVO také významně klesají velké protektivní HDL a LDL.

Pro přesnější stanovení rizika a také strategie terapie bychom tedy měli mít více informací o lipoproteinovém profilu plasmy. Proto je na místě otázka, které subpopulace lipoproteinů zasahuje použitá terapie, jakého benefitu je dosaženo a jak změny v lipoproteinovém profilu prakticky měřit a interpretovat.

Metody, které dokáží detailně analyzovat koncentraci a velikost subpopulací lipoproteinů, jsou např. ultracentrifugace, separace lipoproteinů elektroforézou v gradientových gelech nebo nukleárně magnetická rezonanční spektroskopie. Přestože tyto metody pomáhají odhalit metabolické cesty lipoproteinů a obecné zákonitosti rizikových vlivů na lipoproteinové spektrum, pro stanovení individuálního rizika, případně efektu léčby mají malý význam. Výjimečnost, časová a ekonomická náročnost metod, ale také množství dat, které taková analýza poskytuje, nedovolují jednoznačně určit míru rizika. Pátrá se proto po markeru, který by jednoduše komprimoval získaná data o subpopulacích do 1 čísla, které nejlépe vysvětluje lipoproteinový profil.

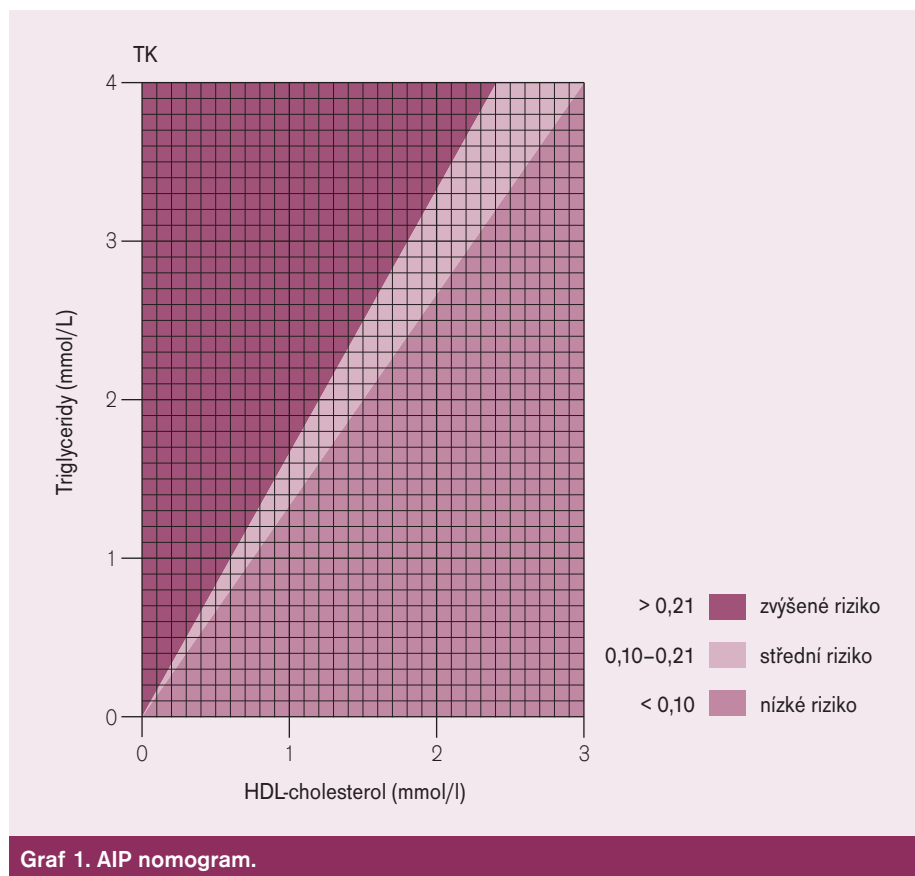
Lipoproteinový profil nejlépe charakterizují 3 biomarkery: poměr apoproteinu B k apoproteinu AI (Apo B/Apo AI) [3], funkční marker FER_{HDL} (frakční esterifikační rychlost cholesterolu) [4–6] a AIP – aterosenní index plasmy – $\text{Log}(TG/HDL-C)$ [6–8].

Apo B v indexu Apo B/Apo AI představuje charakteristiku LDL, kdy se aktuální koncentrace apo B zvyšuje při prevalenci malých denzních vysoce aterosenních LDL částic, neboť každá molekula LDL, malá i velká, obsahuje 1 molekulu apo B. Apo AI zase charakterizuje HDL subpopulace, kdy protektivní velké HDL obsahují více apo AI než ostatní HDL-částice. V INTERHEART

studii [9] mohlo být 90% kardiovaskulárních příhod vysvětleno na základě 9 modifikovatelných rizikových faktorů včetně apo B/apo AI.

FER_{HDL} je nezávislý funkční marker heterogenity lipoproteinových subpopulací. Je mírou rychlosti esterifikace cholesterolu, která je řízena velikostí částic HDL a jejich interakcemi. Významně koreluje inverzně s velikostí částic HDL, LDL a pozitivně s velikostí VLDL. Klinická hodnota tohoto biomarkeru byla dokumentována ve studii s 1 100 účastníky jako nejvýznamnější prediktor pozitivního angiografického nálezu ze 12 biochemických a klinických ukazatelů [6]. V logistických regresních modelech byly hodnoceny: věk, BMI, obvod pasu, DM 2. typu, kouření, TG, TC, LDL-C, apoB, HDL-C, HDL-UC, funkční marker FER_{HDL} , indexy TC/HDL-C a AIP. Pozitivní angiografický nálezu nejlépe vysvětlily FER_{HDL} , věk, kouření a diabetes mellitus 2. typu. Také ve studii HATS (HDL-Atherosclerosis Treatment Study) byl FER_{HDL} nejlepším markerem kvantitativních změn koronárních lézí po léčbě simvastatinem a niacinem [10].

Dalším markerem lipoproteinového profilu je AIP (aterogenní index plasmy) vypočítaný jako logaritmus poměru molárních koncentrací plazmatických triglyceridů a HDL-cholesterolu [$\text{Log}(TG/HDL-C)$]. AIP je biomarker, jehož prediktivní hodnota je velmi podobná FER_{HDL} a také s ním vysoce významně koreluje ($r = 0,8$, $P < 0,00001$). AIP také koreluje inverzně s velkými protektivními částicemi HDL a LDL a pozitivně koreluje s velkými aterosenními částicemi VLDL [11]. Úzký vztah mezi velikostí lipoproteinových částic a poměrem TG/HDL-C lze vysvětlit tím, že regulaci velikosti lipoproteinových subpopulací ovlivňují především triglyceridy a HDL-lipoproteiny [12] za účasti lipoproteinové a hepatické lipázy a lecitin cholesterol acyltransferázy (LCAT). Korelace AIP s celkovým nebo LDL cholesterolem je velmi slabá, což také ukazuje na nezávislost indikátoru lipoproteinového profilu na aktuální koncentraci cholesterolu. Podobně jako Apo B/apo AI a FER_{HDL} , také AIP reflektuje řadu klinických a laboratorních parametrů a vyjadřuje rovnováhu mezi rizikovými a protektivními složkami lipoproteinů, která se uplatňuje i při normálních hladinách cholesterolu. V klinické studii hledání prediktorů pozitivního angiografického nálezu [6] měl AIP nejvyšší hodnotu před věkem, kouřením, obvodem pasu a diabetem mellitus 2. typu, pokud nebyl v regresním modelu zahrnut FER_{HDL} . Citlivým indikátorem KV-rizika byl AIP ve studii



Graf 1. AIP nomogram.

sledování účinnosti antidiabetik na inzulinovou rezistenci [13] a sledování aterogenního profilu plasmu v rodinách probandů s předčasným infarktem myokardu [14]. Na základě hodnocení 32 souborů (asi 9 000 lidí) s různým stupněm KV-rizika byla stanovena kritéria pro jeho kategorizaci [11]: nízké riziko: AIP < 0,1, střední riziko: AIP 0,1–0,21 a zvýšené riziko: AIP > 0,21 (graf 1). Pro výpočet AIP lze hodnoty TG a HDL-C zadat do kalkulačky na webových stránkách [15].

Závěr

Biomarkery, které charakterizují aktuální lipoproteinový profil nesporně přispívají k lepší identifikaci KV-rizika. Lékař je může využít zejména u pacientů se smíšenou dyslipoproteinémií, případně společně se SCORE u nemocných se středním rizikem, u nichž rozhoduje o léčbě. Monitorování úspěšnosti léčby pomocí těchto biomarkerů má také smysl, zejména když nejsou nutné další náklady na vyšetření, jako je tomu u AIP.

Podpořeno grantem Ministerstva zdravotnictví ČR NA/6590-3 a Egis Praha, s.r.o.

Literatura

1. Marcovina SM, Crea G, Avignon J et al. Biochemical and biomaging markers for assessment and diagnosis in major cardiovascular diseases: a road to integration of complementary diagnostic tools. *J Intern Med* 2007; 261: 214–234.
2. Nissen SE, Tardif J, Nicholls SJ et al. Effect of Torcetrapib on the Progression of Coronary Atherosclerosis. *N Engl J Med* 2007; 356: 1304–1316.
3. Walldius G, Jungner I, Holme I et al. 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.
4. Dobiášová M, Stříbrná J, Pritchard PH, Hrohlich JJ. 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.
5. Dobiášová M, Frohlich J. Assays of lecithin cholesterol acyltransferase(LCAT). In: Ordovas JM (ed).

Methods in molecular biology. Lipoprotein protocols. Totowa: Humana Press 1998: 217–230.

6. 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.

7. 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}). *Clin Biochem* 2001; 34: 583–588.

8. Dobiášová M. Atherogenic index of plasma [Log(triglycerides/HDL/cholesterol): Theoretical and practical implications. *Clin Chem* 2004; 50: 113–115.

9. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet* 2004; 364: 937–952.

10. Brown BG, Xue-Qiao Zhao, Chait A et al. Simvastatin and Niacin, antioxidant vitamins, or the combination for the prevention of coronary disease. *N Engl J Med* 2001; 345: 1583–1592.

11. Dobiášová M, Frohlich J, Češka R et al. Cardiovascular risk assessment by atherogenic index of plasma [LOG(TG/HDL-C)]. 2nd International Symposium „Integrated biomarkers in cardiovascular diseases“, Berlin, 2007.

12. Havel RJ. Role of triglyceride-rich lipoproteins in progression of atherosclerosis. *Circulation* 1990; 82: 694–696.

13. Tan MH, Don Johns D, Glazer NB. Pioglitazone Reduces Atherogenic Index of Plasma in Patients with Type 2 Diabetes. Pioglitazone reduces atherogenic index of plasma in patients with type 2 diabetes. *Clin Chem* 2004; 50: 1184–1188.

14. Dobiášová M, Rašlová K, Rauchová H et al. Atherogenic lipoprotein profile in families with and without history of early myocardial infarction; fractional esterification rate of cholesterol in plasma depleted of apoB lipoproteins (FER_{HDL}) and logarithmically transformed ratio of triglycerides to HDL-cholesterol. *Physiol Res* 2001; 50: 1–8.

15. www.athero.cz; www.biomed.cas.cz/fgu/aip

Doručeno do redakce 23. 4. 2008

Přijato k otištění po recenzi 5. 5. 2008

RNDr. Milada Dobiášová, DrSc.

Fyziologický ústav Akademie věd

České republiky, Praha

dobias@biomed.cas.cz