

Nový pohľad v interpretácii dyslipidémii

M. Kučera, S. Oravec

Súhrn

Aterogénny lipoproteínový profil je významným rizikovým faktorom koronárnej choroby srdca. Epidemiologické štúdie poukazujú na prevahu malých LDL častíc, zahrnutých vo vysoko aterogénnom type B, ako netradičný rizikový faktor koronárnej choroby srdca.

V skutočnosti, akákoľvek terapeutická hypolipidemická intervencia vedie k menším či väčším zmenám vo veľkosti lipoproteínových častíc, apolipoproteínov, esterifikácii cholesterolu a lyolitickéj aktivite. Veľa od lipidov odvodených parametrov môže predikovať prítomnosť malých denzných LDL častíc. Hodnoty aterogénneho indexu plazmy korešpondujú presne s esterifikačnou rýchlosťou HDL cholesterolu (FERHDL) a veľkosťou lipoproteínových častíc, a preto môžu byť využité ako markery aterogenity plazmy. Ako presná metóda na zistenie rizika aterosklerózy stanovením možného aterogénneho profilu nezávisle od hypercholesterolémie alebo normocholesterolémie sa ukazuje lineárna polyakrylamidová gélová elektroforéza – LIPOPRINT LDL systém. Jednoznačným prínosom je upozornenie na existenciu neaterogénneho typu hyper- β -lipoproteinémie a existenciu normolipémie s aterogénnym lipoproteínovým profilom.

Kľúčové slová

ateroskleróza – veľkosť LDL častíc – aterogénny index plazmy (AIP) – frakčná esterifikačná rýchlosť (FERHDL) – HDL cholesterol – triacylglyceroly – malé denzné LDL

Summary

New approach to interpreting dyslipidemias. Atherogenic lipoprotein profile of plasma is an important risk factor for coronary artery disease. Epidemiological studies have suggested that a predominance of the small-sized LDL particles, which occurs in pattern B, is highly atherogenic and can become a non traditional risk factor of coronary artery disease. In reality, any therapeutic hypolipidemic intervention leads to bigger or smaller changes in the spectrum of plasma lipids and apoproteins, including changes in lipoproteins particle size and changes in cholesterol esterification and lyolitic rates. There are many lipids related parameters, which can predict presence of small dense LDL. Values of atherogenic index of plasma (AIP) correspond closely to those of FERHDL and to lipoprotein particle size and thus could be used as a markers of plasma atherogenicity.

Thus, to estimate the risk of atherosclerosis more accurately the measurement of particle size distribution in LDL by a linear polyacrylamide gel tube electrophoresis – LIPOPRINT LDL system has been needed as the only definite way to assess potential atherogenic profile independently of hypercholesterolaemia or normocholesterolaemia. The clear contribution is attention to existence nonatherogenic hyper- β -lipoproteinaemia and existence of normolipaemia with an atherogenic lipoprotein profile.

Keywords

atherosclerosis – LDL particle size – atherogenic index of plasma (AIP) – fractional esterification rate (FERHDL) – HDL cholesterol – triglycerides – small dense LDL

ÚVOD

Doposiaľ máme mnoho údajov o význame zvýšených hladín celkového a LDL cholesterolu u pacientov s koronárnou chorobou srdca, ale máme aj pacientov s normocholesterolémiou a akútnymi cievnyimi príhodami. Vieme teda dyslipidémie správne interpretovať v klinickej praxi?

Hypercholesterolémia predstavuje hlavný rizikový faktor aterosklerózy, uvedomujúc si ale, že štruktúra lipidového profilu je pre pacienta kľúčová. Mnohé klinické a prierezové štúdie poukazujú na značne úzky vzťah medzi heterogenitou LDL cholesterolu a rizikom koronárnej choroby srdca. Už počiatočné práce Fishera [1] prezentovali väčšiu „rôznoro-

dosť“ LDL častíc u pacientov s aterosklerózou ako u kontrolných skupín.

LDL častice netvorí celkom homogénnu skupinu, ale líšia sa predovšetkým svojou veľkosťou a denzitou. Výsledkom katabolizmu VLDL – IDL – LDL môžu byť LDL častice líšiace sa svojou veľkosťou, hustotou a zložením (obsah cholesterolu a triacylglycerolov), ktoré podľa ich flotačných vlastností pri ultracentrifugácii v prostredí o rôznej hustote delíme na: LDL I, LDL II, LDL III a LDL IV. Lipoproteíny nízkej hustoty (LDL) flotujú v prostredí hustoty $d = 1,019 - 1,063$ g/ml v β -globulínovej frakcii plazmatických proteínov, predstavujú pri elektroforetickom delení β -lipoproteíny a vytvárajú – β pruh. Na

svojom povrchu nesú vždy jednu molekulu apolipoproteínu B100. LDL o vyššej denzite, ktoré sú tvorené malými časticami LDL ($< 25,5$ nm), tzv. malé denzné LDL, tvorí prevažne LDL III subfrakcia. Podľa denzitometrického stanovenia subpopulácií LDL v 2–16 % v polyakrylamidovom gradientovom géli sa určuje aj fenotyp veľkosti častíc, t.j. A typ (prevaha veľkých častíc), B typ (prevaha malých častíc vyššej denzity, LDL III) a intermediárny typ. Ako príčinu takejto heterogenity možno predpokladať konformačné zmeny v apolipoproteíne B, ktoré ovplyvňujú zmeny jednotlivých subpopulácií v ich väzobnej afinite na LDL-receptor, ale aj ich stupeň rezistencie voči oxidácii či glykácii

[2]. Malé LDL III nesú menej cholesterolu než LDL II a LDL I, preto pri ich zvýšenej koncentrácii v krvi môže byť normálna koncentrácia LDL cholesterolu, ale predsa je u nich vysoké kardiovaskulárne riziko. Často ale býva zvýšený apolipoproteín B100. Tieto LDL III sú pravidelným nálezom u pacientov s metabolickým syndrómom a diabetes mellitus 2. typu. Potvrdilo sa, že osoby, ktoré majú koncentráciu LDL III presahujúcu hranicu 1,0 g/l, majú vysoké aterogénne riziko. Malé denzné LDL častice sa odlišujú od veľkých LDL častíc svojím chemickým zložením (menej polárnych lipidov), ako aj afinitou k väzbe na proteoglykany (apo B-100 malých denzných LDL častíc obsahuje špecifické segmenty zabezpečujúce väzbu na proteoglykany nachádzajúce sa na povrchu týchto častíc).

Do popredia záujmu prichádza netradičné zoskupenie rizikových faktorov (inzulín, apolipoproteín B a veľkosť LDL častíc), nahradzujúc tak tradičné rizikové faktory aterosklerózy (HDL-C, LDL-C, TG).

ATEROGENITA PLAZMY

Aterogénna dyslipidémia je charakterizovaná hypertriacylglycerolémiou, nízkymi hodnotami HDL – cholesterolu a zvýšeným počtom malých denzných LDL častíc [3]. Kinetické štúdie dokazujú, že veľké VLDL 1 častice sú prekursori malých denzných LDL častíc a tieto sa tvoria už pri hladinách TAG nad 1,5 mmol/l. K ich tvorbe napomáha aj znížená lipolýza a predĺžené zotrvávanie VLDL 1 častíc v cirkulácii. Zvýšená výmena lipidov medzi VLDL a LDL sprostredkovaná CETP vedie k formovaniu na TAG bohatých LDL častíc, z ktorých sa za pomoci hepatálnej lipázy formujú malé denzné LDL častice [4].

Malé denzné LDL častice majú mnohé proaterogénne vlastnosti:

- horšia väzba na LDL receptor vzhľadom ku zmene konfigurácie apolipoproteínu B100 v malej častici
- dlhšie zotrvávanie v cirkulácii
- ľahšia penetrácia do intímy artérií a premena na penové bunky cez

tzv. „scavengerové receptory“ najmä makrofágov

- zvýšená väzobná afinita na proteoglykany
- zvýšená náchylnosť na oxidáciu, acetyláciu a formovanie oxidovaných LDL častíc

Veľkosť LDL častíc, ale nie náchylnosť LDL na ich oxidáciu in vitro, je nezávisle spojená s IMT (Intima Media Thickness) karotíd u asymptomatických pacientov s familiárnou kombinovanou hyperlipidémiou. Malé denzné LDL častice tak predstavujú dôležitý diagnostický indikátor rizika vzniku kardiovaskulárnej príhody u týchto pacientov [5]. Kľúčovým hráčom rozvoja aterogénnej dyslipidémie je cholesterol ester – transferový proteín (CETP), ktorého aktivita je u pacientov s metabolickým syndrómom a diabetikov 2. typu zvýšená a vedie k abnormálnej intravaskulárnej remodelácii lipoproteínov obsahujúcich apo B (VLDL, VLDL remnantné častice a LDL), ako aj HDL častíc. CETP sprostredkovaná výmena esterov cholesterolu a triacylglycerolov vedie k vzniku častíc bohatých na triacylglyceroly, ktoré sú následne hydrolyzované hepatálnou lipázou za vzniku aterogénnych, malých denzných LDL častíc, ako aj malých denzných HDL častíc. Tento typ dyslipidémie je teda vysoko aterogénny, preto podľa súčasných odporúčaní by mali pacienti s metabolickým syndrómom a prítomnou aterogénnou dyslipidémiou dosahovať cieľové hodnoty lipidového spektra ako diabetici 2. typu, resp. ako pacienti s vysokým kardiovaskulárnym rizikom [6].

Tan a ostatní [7] ukázali praktické využitie aterogénneho indexu plazmy (AIP) ako $\log(TG/HDL-C)$ pri sledovaní zmien lipoproteínového profilu počas klinických skúšok s pioglitazónmi. Skupina liečená pioglitazónmi dosiahla signifikantné zníženie aterogénneho indexu oproti kontrolnej skupine užívajúcej placebo. Porovnaním AIP a pomeru TG/HDL-C sa zistila vyššia korelácia medzi AIP a aterogenitou plazmy ako pri TG/HDL-C [8]. Vzhľadom

na vysokú variabilitu koncentrácie triacylglycerolov v plazme, nedostatok informácií triacylglycerolov v biochemických mechanizmoch, sú vyvíjané neustále úsilia na prínos ideálneho aterogénneho markera nezávisle od lipidov. V skutočnosti akákoľvek terapeutická hypolipidemická intervencia vedie k menším či väčším zmenám vo veľkosti lipoproteínových častíc, esterifikácii cholesterolu a lipolytickej aktivite. A práve triacylglyceroly hrajú významnú úlohu pri regulácii lipoproteínových interakcií, ale nie ako nezávislý rizikový faktor. Nedávno bola diskutovaná úloha triacylglycerolov ako nezávislého rizikového faktora koronárnej choroby srdca [10,11]. Dostávajú sa však do stredného záujmu s úsilím o vysvetlenie pôvodu hypertriacylglycerolémie s jej patofyziologickým prepojením na koronárnu chorobu srdca, poznajúc vysoké zastúpenie aterogénnych malých denzných LDL častíc v rámci hypertriacylglycerolémie. Medzi bežné limitácie využitia AIP patria pacienti s familiárnou hypercholesterolémiou, kde hodnoty AIP bývajú nízke, napriek akcelerovanej aterogenéze u týchto skupín. A naopak u pacientov s familiárnou hypertriacylglycerolémiou alebo chylomikronémiou môže AIP zvyšovať riziko. Aj napriek týmto limitom však aterogénny index plazmy má uplatnenie ako alternatívny marker v posudzovaní aterogenity plazmy, aj keď údaje z klinických skúšok sú potrebné pre širšie využitie tohto markera [9].

Na princípe merania rýchlosti esterifikácie cholesterolu (FERHDL) pomocou lecitín cholesterol acyltransferázy (LCAT) v plazme je snaha lepšie posúdiť lipoproteínový fenotyp. Tento proces, ktorý prebieha len v HDL, je dôležitý pre intravaskulárny cholesterolový transport. Významným zistením bolo, že rovnako ako gradientová gelová elektroforéza, aj $\log(TG/HDL-C)$ a FERHDL môžu predikovať veľkosť LDL častíc [9]. Toto podporuje fakt, že LDL a HDL častice sú úzko prepojené s rešpektovaním vzťahu ku koncentráciám triacylglycerolov a HDL cholesterolu. Nízky HDL cholesterol a vysoké koncentrácie

triacylglycerolov vedú spolu k zvyšovaniu malých HDL a LDL častíc. FERHDL sa tiež zvyšuje. Výskyt malých HDL častíc (HDL3) zvyšuje FERHDL, zatiaľ čo veľké HDL2 častice majú opačný efekt. Vysoko signifikantný vzťah medzi FERHDL a AIP bol zistený celkovo u 1433 pacientov s rozmanitými rizikami aterosklerózy (novorodenci, zdraví muži a zdravé ženy, pred a postmenopauzálna žena, pacienti s artériovou hypertenziou, diabetes mellitus typ 2, pacienti s angiograficky potvrdenou koronárnou chorobou srdca) [9].

Mishima a ostatní [12] dokázali, že LDL – migračný index (LDL-MI) > 0,4 indikuje prítomnosť malých denzných LDL častíc. LDL-MI je daný ako interval medzi maximálnym migračným vrcholom VLDL a LDL. Pomer LDL-C/apo B taktiež indikuje prítomnosť malých denzných LDL častíc. Keď sa porovnávali s týmito ukazovateľmi log (celkový cholesterol/TG) a log (LDL-C/TG), výsledky ukázali, že celkový cholesterol/TG aj LDL-C/TG sa môžu v praxi uplatniť ako ukazovatele prítomnosti aterogénnych LDL častíc [13].

Ostatní autori však podporujú priame meranie aterogénnych malých denzných LDL častíc ako definitívnu možnosť, ako zistiť aterogénny fenotyp. Svetlo v diagnostike dyslipidémii prináša nová metóda delenia lipoproteínov na polyakrylamidovom géli: Lipoprint LDL system Quantimetrix corp., Ca USA s možnosťou kvantitatívne vyhodnotiť koncentráciu aterogénnych lipoproteínov a určiť tak typ lipoproteínového spektra na aterogénne (LDL3 až 7) alebo neaterogénne (LDL1 až 2) alebo neaterogénne (typ B). Malé denzné LDL častice sú určujúce pri hodnotení aterogenity ako pri hyperlipoproteínemii, tak aj pri normolipémii. Cieľom terapeutických intervencií je preto reštrukturalizovať lipoproteínové zloženie u pacienta bez ohľadu na výšku rutinne stanovovaného cholesterolu, s využitím nových metódik stanovovania aterogenity.

Jednoznačným prínosom je upozornenie na existenciu neaterogénneho typu hyper- β -lipoproteínemie a existenciu normolipémie s aterogénnym lipoproteínovým profilom. Nová elfo metóda spĺňa americké kritériá FDA (Food and Drug Administration), aby mohla byť používaná v humánnej medicíne [16]. Vznikla zo snahy nahradiť bežné metódy na analýzu LDL (non denaturing gradient gel electrophoresis – NDGGE, nuclear magnetic resonance spectroscopy – NMR), s ktorými bola úspešne porovnávaná a odporúčaná pre rutinné použitie v klinických laboratóriách [17].

ZÁVER

Množstvo od lipidov odvodených parametrov môže predpovedať riziko koronárnej choroby srdca. Keďže FERHDL dobre koreluje s koncentraciami triacylglycerolov a HDL cholesterolu v plazme, možno predpokladať dobrú výpovednú hodnotu na aterogenitu lipoproteínov plazmy. Logaritmicky transformovaný pomer TG/HDL-C rovnako, ako veľkosť LDL častíc môže byť použitý ako jednoduchý a ľahko vypočítaný parameter pri interpretácii aterogenity lipoproteínov plazmy. Zatiaľ čo celkový cholesterol/TG aj LDL-C/TG poskytuje podobnú výpovednú hodnotu, využitie pomeru celkový cholesterol/TG môže byť v praktických podmienkach jednoduchšie. Novšie vyšetrovacie postupy v medicínsko-biochemickej diagnostike (Lipoprint LDL system) však umožňujú lepšie kvantifikovať neaterogénny lipidový profil (typ A) a aterogénny lipidový profil (typ B). Malé denzné LDL častice sú určujúce pri hodnotení aterogenity ako pri hyperlipoproteínemii, tak aj pri normolipémii. Cieľom terapeutických intervencií je preto reštrukturalizovať lipoproteínové zloženie u pacienta bez ohľadu na výšku rutinne stanovovaného cholesterolu, s využitím nových metódik stanovovania aterogenity.

Literatúra

1. Fisher WR. Heterogeneity of plasma low density lipoproteins manifestations of the physiologic phenomenon in man. *Metabolism* 1983; 32: 283-291.

2. Oravec S. Lipoproteíny v diagnostike interných ochorení. Bratislava: Veda 1999: 31-62.
3. Fábryová L. Aterogénna dyslipidémia – súčasť metabolického syndrómu. *Cardiol* 2005; 14(3): 124-130.
4. Packard CJ et al. Apolipoprotein B metabolism and the distribution of VLDL and LDL subfractions. *J Lipid Res* 2000; 41: 305-318.
5. Liu M et al. Association between carotid intima-media thickness and low-density lipoprotein size and susceptibility of low-density lipoprotein to oxidation in asymptomatic members of familial combined hyperlipidemia families. *Stroke* 2002; 33: 1255-1260.
6. Tkáč I et al. Manažment dyslipidémii u pacientov s diabetes mellitus. Vyjadrenie stanoviska Slovenskej diabetologickej spoločnosti a Slovenskej asociácie aterosklerózy. *Interná medicína* 2006; 6(1): 2-7.
7. Tan MH, Johns D, Glazer NB. Pioglitazone reduces atherogenic index of plasma in patients with type 2 diabetes. *Clin Chem* 2004; 50: 1184-1188.
8. Dobiášová M. Atherogenic Index of Plasma [Log(Triglycerides/HDL-Cholesterol)]: Theoretical and Practical Implications. *Clin Chem* 2004; 50(7): 1113-1115.
9. 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 (FERHDL). *Clin Biochem* 2001; 34: 583-588.
10. Charbonel B, Dormandy JA et al. The PROactive (PROspective Pioglitazone Clinical Trial in Macrovascular Events) Study Group. The PROactive study: preliminary baseline characteristics in 1843 patients. *Diabetologia* 2002; 45(Suppl 2): A107.
11. 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.
12. Mishima Y, Ando M, Kuyama A et al. A simple method for identifying particle size of low density lipoprotein using PAG electrophoresis: comparison between LipoPhorTM and LipoPrint LDLTM systems. *J Jpn Atheroscler Soc* 1997; 25: 67-70.
13. Akihiro Y, Masaaki K, Yasuko M et al. Usefulness of Serum Total Cholesterol/Triglyceride Ratio for Predicting the Presence of Small, Dense LDL. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis* 2004; 11(4): 215-219.
14. Oravec S. Nová laboratórno-medicínska pomoc v diagnostike dyslipoproteínemii a kardiovaskulárnych ochorení: Identifikácia LDL podskupín. *Med Milit Slov* 2006; 8: 28-32.
15. Oravec S. Identifikácia subpopulácií LDL triedy – Aktuálny prínos v diagnostike porúch metabolizmu lipoproteínov a ochorení kardiovaskulárneho systému. *Med Milit Slov* 2006; 8: 32-34.
16. Lamarche B et al. Small dense LDL lipoprotein particles as a predictor of the risk of ischaemic heart disease in men. Prospective results from the Quebec Cardiovascular Study. *Circulation* 1997; 95: 69-75.
17. Hoefner MD et al. Development of a Rapid Quantitative Method for LDL Subfractionation with Use of the Quantimetrix Lipoprint LDL system. *Clin Chem* 2001; 47(2): 266-274.

MUDr. Marek Kučera
doc. MUDr. Stanislav Oravec, CSc.

II. Interná klinika LF UK a FNŠP
v Bratislave