

# Czy regresja zmian miażdżycowych jest możliwa tylko przez obniżanie stężenia LDL i czy jest to działanie wystarczające, by zredukować skłonność tych lipoprotein do oksydacyjnej modyfikacji?

Is the regression of atherosclerosis only possible by lowering LDL levels and is this sufficient to reduce the tendency of these lipoproteins to oxidative modification?

Paweł Burchardt<sup>1</sup>, Jakub Żurawski<sup>2</sup>, Tomasz Kubacki<sup>2</sup>, Henryk Wysocki<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Klinika Intensywnej Terapii Kardiologicznej i Chorób Wewnętrznych, Uniwersytet Medyczny, Poznań

<sup>2</sup>Katedra i Zakład Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Medyczny, Poznań

## Abstract

The process of atherogenesis can be conditioned by the imbalance between the tendency to oxidative modification of the lipoproteins containing apoprotein B100 and antioxidant plasma properties. The paper discusses the situations leading to disruption of oxidative homeostasis on the basis of available data.

**Key words:** LDL oxidative modification, apoB100

Kardiol Pol 2011; 69, 8: 834–837

## WSTĘP

Angiograficzną regresję zmian miażdżycowych w obrębie tętnic wieńcowych zaobserwowano u pacjentów wówczas, gdy osoczowe stężenia lipoprotein o małej gęstości (LDL) obniżyły się do poniżej 70 mg/dl [1]. Zastanawiające jest, czy za opisywane zjawisko zmniejszenia rozmiarów blaszki miażdżycowej są odpowiedzialne rzeczywiście niskie osoczowe stężenia LDL. W badaniu ARBITER uzyskiwano istotnie statystycznie większą redukcję stężeń LDL i cholesterolu całkowitego (TC) w grupie osób leczonych statyną i ezetimibem w porównaniu z grupą stosującą statynę i kwas nikotynowy [2]. Mimo to grubość kompleksu *intima-media* (mierzona w tętnicy szyjnej wspólnej) oraz częstość poważnych incydentów sercowo-naczyniowych po 14 miesiącach terapii była mniejsza w grupie osób przyjmujących statynę i kwas nikotynowy.

Najlogiczniejszym wnioskiem wydaje się stwierdzenie, że badacze wykazali przewagę jednego schematu hipolipemizującego nad drugim. Ponieważ takie efekty uzyskiwano przy wyższych stężeniach LDL i TC, należy podejrzewać istnienie nieznanego dotychczas, a korzystnego mechanizmu oddziaływania stosowanych preparatów statyny i kwasu nikotynowego na blaszkę miażdżycową. Najprawdopodobniej mechanizm ten mógłby być niezależny od wpływu ocenianych frakcji lipidowych. Uwiarygodnienie powyższej hipotezy jest możliwe przy odrzuceniu poglądu, że tylko LDL mogą przenikać do ściany naczyniowej i w ten sposób inicjować powstawanie blaszki miażdżycowej. Podobne właściwości wykazują przecież takie lipoproteiny, jak VLDL (lipoproteina o bardzo niskiej gęstości) i IDL (lipoproteina o pośredniej gęstości) [3]. Warunkiem ich przenikania do warstwy podśródbłonkowej

## Adres do korespondencji:

dr n. med. Paweł Burchardt, Klinika Intensywnej Terapii Kardiologicznej i Chorób Wewnętrznych, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu, ul. Przybyszewskiego 49, 60–355 Poznań, tel: +48 61 869 13 94, e-mail: pab2@tlen.pl

Praca wpłynęła: 01.12.2010 r. Zaakceptowana do druku: 08.12.2010 r.

Copyright © Polskie Towarzystwo Kardiologiczne

naczynia jest jednak oksydacyjna defragmentacja apoproteiny B100 (apoB100) [4, 5].

Lipoproteiny bogate w apoB100 odpowiadają za transport lipidów, w tym m.in. TC, jego estrów i triglicerydów do tkanek obwodowych. Równie ważny jest zwrotny transport tłuszczów do wątroby, realizowany z kolei przez lipoproteinę o dużej gęstości (HDL) [6]. Zaburzenia wspomnianych szlaków transportowych lub ich wzajemnej równowagi, objawiające się wzrostem frakcji lipoproteinowych bogatych w apoB lub obniżeniem stężeń frakcji bogatych w apoproteinę A1 (apoA1), są uznanym czynnikiem ryzyka miażdżycy [7]. Na co dzień często spotyka się osoby z wysokimi stężeniami LDL i TC, u których nie notuje się wyraźnych objawów choroby niedokrwiennej serca. Z kolei, nietrudno spotkać pacjentów z prawidłowymi stężeniami frakcji LDL, VLDL, IDL czy HDL, którzy manifestują pełnoobjawową dusznicę bolesną, potwierdzoną w badaniu angiograficznym tętnic wieńcowych.

Uważa się, że zaburzenia gospodarki lipidowej są najpowszechniejszymi czynnikami niezbędnymi dla aktywacji lokalnego procesu zapalnego w ścianie naczyniowej. Niebezpieczeństwo rozwoju zmian miażdżycowych wynikające z tych zaburzeń pojawia się jednak najprawdopodobniej dopiero wówczas, gdy w osoczu i/lub w ścianie naczyniowej powstaną odpowiednie warunki niezbędne do utleniania lipidów zawartych w strukturze lipoprotein [8, 9]. Proces aterogenezy jest bowiem wypadkową skłonności do oksydacyjnej modyfikacji lipoprotein zawierających apoB100 i antyoksydacyjnych właściwości osocza. Skłonność do oksydacyjnej modyfikacji lipoprotein bogatych w apoB100 zależy od osoczowych stężeń tych lipoprotein i aktywności procesów utleniania, natomiast za właściwości antyoksydacyjne osocza odpowiada m.in. HDL. Zrozumiałe jest zatem, że im wyższe stężenie VLDL, IDL czy LDL, tym większa pula substratów dla procesu utleniania.

### OKSYDACJA LIPOPROTEIN

Lipoproteina o niskiej gęstości oraz inne lipoproteiny są utleniane w osoczu przez wolne jony metali, wolne rodniki tlenowe, lipooksygenazę czy mieloperoksydazę, głównie jednak proces zachodzi w ścianie naczyniowej [10]. Tak zmodyfikowana cząsteczka LDL, w porównaniu z natywną cząsteczką LDL, posiada 75% zredukowanego kwasu arachidonowego, 80% kwasu linoleinowego, i 60–90 zmodyfikowanych ugrupowań lizyny. W warunkach *in vivo* dominuje oksydacja w ścianie naczyniowej, zależna od aktywacji mieloperoksydazy. Świadczy o tym brak w ścianie naczyniowej o-tyrozyny i m-tyrozyny, produktów oksydacji zależnej od jonów metali [10–12]. Aktywne neutrofile pod wpływem kompleksu mieloperoksydaza–H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> produkują aldehyd acetylo-beta-hydroksyfenylowy, główny produkt oksydacji L-tyrozyny. Takie komórki są wykrywane na pękających blaszkach miażdżycowych [10].

### DEFRAGMENTACJA APOB100 I JEJ ZAPOBIEGANIE

Etiologii miażdżycy należy najprawdopodobniej upatrywać w oksydacji nie tylko lipidów zawartych w strukturze lipoprotein LDL, VLDL czy IDL [13], ale przede wszystkim w neutralizacji dodatnio naładowanych grup e-aminowych lizyny apoB100 [10]. Ugrupowania te ulegają transformacji w wyniku oddziaływania z aktywnymi aldehydami — malonyldialdehydem i 4-hydroksynonenalem — pierwszymi produktami oksydacji lipidów w lipoproteinie [10]. Tylko tak zmodyfikowane cząsteczki LDL są wychwytywane przez swoiste receptory komórek fagocytujących [14, 15], obecnych w ścianie naczyniowej. Komórki te, pochłaniając oksydowane lipidy w przestrzeni podśródbłonkowej, przekształcają się w komórki piankowe, jedną ze składowych blaszki miażdżycowej. Co ciekawe, inna niż oksydacyjna fragmentacja apoB100, podobnie jak wysokie stężenia LDL w warunkach eksperymentalnych, nie powodowały zwiększonego pochłaniania tych molekuł przez makrofagi [15–17]. Nierzadko spotykany w warunkach klinicznych brak aterogenezy przy wysokich stężeniach LDL może więc być wynikiem przewagi wewnątrzcząsteczkowych antyoksydacyjnych właściwości tej lipoproteiny. Odpowiadają za nie: alfa-tokoferol (ok. 6 cząsteczek na 1 molekułę LDL), małe ilości gamma-tokoferolu, karotenoidów, kryptoksantyny i ubichinonu-10. Chronią one zawarte w LDL wielonienasycone kwasy tłuszczowe przed oksydacyjną modyfikacją [10, 18]. Zmiana składu transportowanych przez LDL frakcji lipidowych, przesuująca wewnątrzcząsteczkową równowagę w kierunku właściwości utleniających, może predysponować do procesu transformacji w minimalnie oksydowane (mmLDL) [13], a później małe aterogenne LDL. Ze względu na to, że mmLDL mogą migrować do przestrzeni podśródbłonkowej bez pośrednictwa fagocytów [13] oraz że czas ich połowicznego rozpadu w osoczu jest dłuższy niż jakiegokolwiek innej lipoproteiny bogatej w apoB, wielu badaczy właśnie LDL uznaje za najbardziej miażdżycorodne.

### POTENCJAŁ OKSYDACYJNY OSOCZA I PRÓBY JEGO OGRANICZANIA

Prawidłowe stężenie lipoprotein bogatych w apoB100 nie wyklucza ich nadmiernego utleniania, co może mieć miejsce w warunkach zwiększonego stresu oksydacyjnego. Zachodzi ono w układowych chorobach tkanki łącznej, cukrzycy, hiperhomocysteinemii czy w chorobach związanych z kumulacją jonów metali [10]. Z kolei redukcję stresu oksydacyjnego obserwuje się przy wysokich osoczowych stężeniach bilirubiny, kwasu moczowego, albumin, ceruloplazminy czy transferyny. Właściwości antyoksydacyjne wykazuje także HDL, głównie poprzez ekspresję takich białek enzymatycznych i strukturalnych, jak paroksonaza, acylotransferaza lecytyna:cholesterol, fosfolipaza A<sub>2</sub> i białko apoA1 [10–20]. Nie tylko hamują one oksydację lipidów zawartych w LDL, ale również ekspresję molekuł adhezyjnych w pobudzonym śródbłonku naczyniowym. Zatem, aby

zatrzymać proces aterogenezy, konieczne jest torowanie antyoksydacyjnej funkcji HDL i hamowanie podatności na utlenianie lipoprotein zawierających apoB100. Hamowanie skłonności do oksydacji jest procesem złożonym i powinno obejmować albo redukcję stresu oksydacyjnego, albo obniżanie osoczowych stężeń lipoprotein zawierających apoB100. Cele te bywają realizowane z różnymi efektami. Próby wpływania na antyoksydacyjne właściwości HDL, poprzez ich suplementację czy infuzje rekombinowanych apoA1, budzą wiele kontrowersji [21, 22].

Dotychczas najbardziej skutecznym narzędziem okazuje się redukcja stężeń lipoprotein zawierających apoB100, które mogą przenikać do przestrzeni podśródbłonkowej. Dlatego duże nadzieje wiąże się ze skojarzoną terapią przy użyciu statyny z fibratami (Accord), czy z kwasem nikotynowym (Arbiter). Prowadzi się także próby z inhibitorami fosfolipazy A<sub>2</sub> związanej z lipoproteinami (PLA<sub>2</sub>). Enzym ten jest esterazą katalizującą rozpad wiązania w pozycji sn-2 triglicerydów czy fosfolipidów [23]. Do jego aktywacji dochodzi wówczas, gdy w lipoproteinach osocza lub w komórkach fagocytujących pojawiają się aktywne aldehydy — pierwsze produkty oksydacji. Aterogenne właściwości PLA<sub>2</sub> nie są związane bezpośrednio z hydrolizą oksydowanych fosfolipidów, co byłoby zjawiskiem pożądanym, ale z PAF (czynnik aktywujący płytki)-podobnymi polarnymi produktami tej reakcji [24–26]. Inhibitor LP-PLA<sub>2</sub> — darapladib, w porównaniu z preparatami statyn, prowadzi do znacznej redukcji śmiertelności z przyczyn sercowo-naczyniowych u pacjentów z chorobą niedokrwienną serca [27, 28]. Ta nowoczesna forma terapii wykazuje jednak pewne ograniczenia, którymi są mało poznane właściwości samej LP-PLA<sub>2</sub>. Enzym ten odgrywa bowiem ważną rolę antyoksydacyjną w HDL i VLDL [13, 29] i dotąd nieznanym pozostaje wpływ leku na PLA<sub>2</sub> w tych lipoproteinach. Zaskakujące są często przeciwstawne biologiczne funkcje tych samych cząsteczek w różnych przedziałach biologicznych. Ich wyjaśnienie jest trudne z punktu technicznego, ponieważ w warunkach klinicznych metodyka oznaczeń substratów i produktów reakcji katalizowanych przez enzymy związane z funkcją lipoprotein jest skomplikowana i nie wychodzi poza ramy naukowego eksperymentu. Dlatego poszukuje się wskaźników, których łatwość oznaczeń laboratoryjnych byłaby dodatkowo uzupełniana ich wysoką czułością i swoistością, a w związku z tym przydatnością kliniczną.

### JAK MODULOWAĆ SKŁONNOŚĆ DO OKSYDACJI LIPOPROTEIN OSOCZA I OKREŚLAĆ RYZYKO WYSTĄPIENIA MIAŻDŻYCY?

Do tej pory wiele danych z piśmiennictwa sugeruje kliniczną użyteczność oznaczania stężeń lipoproteiny(a) oraz białkowych składowych lipoprotein, takich jak apoB100 czy apoA1. Osoczowe stężenia apoA1 i apoB100 wykorzystuje się do we-

ryfikacji stężeń LDL i HDL, których stężenia są wyliczane ze wzoru [30–33].

Stężenie lipoproteiny(a) może z kolei pośrednio określać oksydacyjny potencjał lipoprotein osocza [34]. Istnieje także wiele danych świadczących o prognostycznej roli wskaźnika wyznaczanego na podstawie stężeń apoB100 i apoA1 w określaniu ryzyka chorób sercowo-naczyniowych [33]. Z kolei, właściwie nie ma danych sugerujących przydatność tych parametrów u pacjentów z rozpoznaną miażdżycą naczyń wieńcowych, u których w następstwie terapii hipolipemizującej uzyskano normalizację wartości LDL, TC i TG. Ponadto, nie istnieją doniesienia, które sugerowałyby przydatność łatwych do zastosowania w warunkach klinicznych wskaźników określających zwiększone ryzyko sercowo-naczyniowe u pacjentów z rozpoznaną miażdżycą naczyń, zwłaszcza leczonych statynami. Zagadnienia te są obecnie przedmiotem badań zespołu autorów niniejszej pracy. Dotychczasowe doświadczenia sugerują, że parametrem bardzo dobrze skorelowanym ze wzrostem ryzyka sercowo-naczyniowego u pacjentów poddawanych terapii hipolipemizującej jest określenie proporcji TC w odniesieniu do osoczowych stężeń apoB100. Autorzy stwierdzili, że wartości tego parametru (niezależnie od intensywności terapii hipolipemizującej statynami) są znamienne statystycznie niższe w grupie chorych z hemodynamicznie istotnymi zwężeniami w świetle tętnic wieńcowych w porównaniu z osobami bez jakichkolwiek zmian w naczyniach wieńcowych (dane nieopublikowane). Wynik ten należy tłumaczyć w ten sposób, że najprawdopodobniej chorzy z ciężką miażdżycą w analizie autorów charakteryzowali się relatywnie wyższym poziomem ekspresji apoB100, mimo stosowanego leczenia hipolipemizującego. Oznacza to, że u osób z dużym obciążeniem sercowo-naczyniowym w porównaniu z osobami bez takich obciążeń zdolność do redukcji ekspresji apoB100 przez statyny jest zmniejszona. Z kolei względnie zwiększona ilość apoB100 sprawia, że stają się one podatne na oksydacyjną defragmentację i w efekcie wymiatanie przez komórki fagocytujące. Oczywiście, powyższe wnioskowanie wymaga potwierdzenia w badaniach przeprowadzonych w dużych grupach pacjentów, niemniej otrzymane wyniki wydają się zachęcające.

**Konflikt interesów:** nie zgłoszono

### Piśmiennictwo

1. Ridker PM, Danielson E, Fonseca FA et al. Reduction in C-reactive protein and LDL cholesterol and cardiovascular event rates after initiation of rosuvastatin: a prospective study of the JUPITER trial. *Lancet*, 2009; 373: 1175–1182.
2. Clearfield M. Statins in combinations: from ARBITER-6 HALTS to ACCORD — what works? *Curr Atheroscl Rep*, DOI: 10.1007/s11883-010-0142-3.
3. Alipour A, van Oostrom AJ, Izraeljan A et al. Leukocyte activation by triglyceride-rich lipoproteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2008; 28: 792–797.

4. Steinbrecher UP. Oxidation of human low density lipoprotein results in derivatization of lysine residues of apolipoprotein B by lipid peroxide decomposition products. *J Biol Chem*, 1987; 262: 3603–3608.
5. Parthasarathy S, Steinbrecher UP, Barnett J, Witztum JL, Steinberg D. Essential role of phospholipase A2 activity in endothelial cell-induced modification of low density lipoprotein. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1985; 82: 3000–3004.
6. Burchardt P, Wiktorowicz K, Goździcka-Józefiak A, Parucki R, Wysocki H. Disturbances in mitochondrial biosynthesis of acetyl-CoA and their role in the prevention of ischemic heart disease. *Kardiol Pol*, 2008; 66: 1215–1220.
7. Graham I. European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: executive summary. *Atherosclerosis*, 2007; 194: 1–45.
8. Witztum JL, Steinberg D. Role of oxidized low density lipoprotein in atherogenesis. *J Clin Invest*, 1991; 88: 1785–1792.
9. Witztum JL. The oxidation hypothesis of atherosclerosis. *Lancet*, 1994; 344: 793–795.
10. Mertens A, Hobvoet P. Oxidized and HDL: antagonists in atherothrombosis. *FASEB J*, 2001; 15: 2073–2084.
11. Holvoet P, Stassen JM, Van Cleemput J, Collen D, Vanhaecke J. Oxidized low density lipoproteins in patients with transplant-associated coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1998; 18: 100–107.
12. Holvoet P, Vanhaecke J, Janssens S, Van de Werf F, Collen D. Oxidized LDL and malondialdehyde-modified LDL in patients with acute coronary syndromes and stable coronary artery disease. *Circulation*, 1998; 98: 1487–1494.
13. Lee C, Sigari F, Segrado T et al. All apoB-containing lipoproteins induce monocyte chemotaxis and adhesion when minimally modified: modulation of lipoprotein bioactivity by platelet-activating factor acetylhydrolase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999; 19: 1437–1446.
14. Steinbrecher UP, Witztum JL. Glucosylation of low density lipoproteins to an extent comparable to that seen in diabetes slows their catabolism. *Diabetes*, 1984; 33: 130–134.
15. Goldstein JL, Ho YK, Basu SK, Brown MS. Binding site on macrophages that mediates uptake and degradation of acetylated low density lipoprotein, producing massive cholesterol deposition. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1979; 76: 333–337.
16. Fogelman AM, Shechter I, Seager J, Hokom M, Child JS, Edwards P. Malondialdehyde alteration of low density lipoproteins leads to cholesteryl ester accumulation in human monocyte-macrophages. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1980; 77: 2214–2218.
17. Brown MS, Basu SK, Falck JR, Ho YK, Goldstein JL. The scavenger cell pathway for lipoprotein degradation: specificity of the binding site that mediates the uptake of negatively-charged LDL by macrophages. *J Supramol Struct*, 1980; 13: 67–81.
18. Ramos P, Gieseg SP, Schuster B, Esterbauer H. Effect of temperature and phase transition on oxidation resistance of low density lipoprotein. *J Lipid Res*, 1995; 36: 2113–2128.
19. Aviram M, Rosenblat M, Bisgaier CL, Newton RS, Primo-Paromo SL, La Du BN. Paraonase inhibits high-density lipoprotein oxidation and preserves its functions. A possible peroxidative role for paraonase. *J Clin Invest*, 1998; 101: 1581–1590.
20. Vohl MC, Neville TA, Kumarathasan R, Braschi S, Sparks DL. A novel lecithin-cholesterol acyltransferase antioxidant activity prevents the formation of oxidized lipids during lipoprotein oxidation. *Biochemistry*, 1999; 38: 5976–5981.
21. Ibanez B, Vilahur G, Cimmino G et al. Rapid change in plaque size, composition, and molecular footprint after recombinant apolipoprotein A-I Milano (ETC-216) administration: magnetic resonance imaging study in an experimental model of atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol*, 2008; 51: 1104–1109.
22. Nissen SE, Tsunoda T, Tuzcu EM et al. Effect of recombinant ApoA-I Milano on coronary atherosclerosis in patients with acute coronary syndromes: a randomized controlled trial. *JAMA*, 2003; 290: 2292–2300.
23. Min JH, Jain MK, Wilder C et al. Membrane-bound plasma platelet activating factor acetylhydrolase acts on substrate in the aqueous phase. *Biochemistry*, 1999; 38: 12935–12942.
24. Kume N, Cybulsky MI, Gimbrone MA Jr. Lysophosphatidylcholine, a component of atherogenic lipoproteins, induces mononuclear leukocyte adhesion molecules in cultured human and rabbit arterial endothelial cells. *J Clin Invest*, 1992; 90: 1138–1144.
25. Macphee CH. Lipoprotein-associated phospholipase A2: a potential new risk factor for coronary artery disease and a therapeutic target. *Curr Opin Pharmacol*, 2001; 1: 121–125.
26. Arakawa H, Qian J-Y, Baatar D et al. Local expression of platelet-activating factor-acetylhydrolase reduces accumulation of oxidized lipoproteins and inhibits inflammation, shear stress-induced thrombosis, and neointima formation in balloon-injured carotid arteries in nonhyperlipidemic rabbits. *Circulation*, 2005; 111: 3302–3309.
27. Bui QT, Wilensky RL. Darapladib. *Exp Opin Investig Drugs*, 2010; 19: 161–168.
28. Mohler III ER, Ballantyne CM, Davidson MH et al. The effect of darapladib on plasma lipoprotein-associated phospholipase A2 activity and cardiovascular biomarkers in patients with stable coronary heart disease or coronary heart disease risk equivalent. The results of a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J Am Coll Cardiol*, 2008; 51: 1632–1641.
29. Kujiraoka T, Iwasaki T, Ishihara M et al. Altered distribution of plasma PAF-AH between HDLs and other lipoproteins in hyperlipidemia and diabetes mellitus. *J Lipid Res*, 2003; 44: 2006–2014.
30. Lamarche B, Moorjani S, Lupien PJ et al. Apolipoprotein A-1 and B levels and the risk of ischemic heart disease during a five-year follow-up of men in the Quebec Cardiovascular Study. *Circulation*, 1996; 94: 273–278.
31. Talmud PJ, Hawe E, Miller GJ, Humphries SE. Nonfasting apolipoprotein B and triglyceride levels as a useful predictor of coronary heart disease risk in middle-aged UK men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2002; 22: 1918–1923.
32. Rader DJ, Hoeg JM, Brewer HB. Quantitation of plasma apolipoproteins in the primary and secondary prevention of coronary artery disease. *Ann Intern Med*, 1994; 20: 1012–1025.
33. Walldius G, Jungner I. The apoB/apoA-I ratio: a strong, new risk factor for cardiovascular disease and a target for lipid-lowering therapy—a review of the evidence. *J Int Med*, 2006; 259: 493–519.
34. Su W, Campos H, Judge H, Walsh BW, Sachs FM. Metabolism of Apo(a) and ApoB100 of lipoprotein(a) in women: effect of postmenopausal estrogen replacement. *J Clin Endocrinol Metab*, 1998; 83: 3267–3276.