

Fosfolipáza A₂ asociovaná s lipoproteiny – význam, metoda stanovení a klinické monitorování

Beňovská M.^{1,2}, Babušíková L.¹, Pařenica J.³, Tůmová J.¹

¹ Oddělení klinické biochemie a hematologie, Fakultní nemocnice Brno

² Katedra laboratorních metod MU, Brno

³ Interní kardiologická klinika, Fakultní nemocnice Brno

SOUHRN

Cíl práce: Popularizace nového biochemického parametru fosfolipázy A₂ asociované s lipoproteiny v souvislosti s aterosklerózou, infarktem myokardu a cévní ischemickou příhodou, prezentace výsledků získaných v rámci mezinárodní studie Enablement, zabývající se verifikací metody stanovení tohoto parametru, uvedení výsledků dosažených při klinickém testování zvolených skupin pacientů.

Materiál a metody: Stanovení fosfolipázy A₂ asociované s lipoproteiny (Lp-PLA₂) imunoturbidimetrickou metodou od americké společnosti diaDexus. Devadesát pacientů bylo rozděleno do čtyř souborů podle diagnózy.

Výsledky: Byla zavedena metoda stanovení Lp-PLA₂. Porovnali jsme přesnost (CV_{opak} = 1,1%, CV_{repro} = 3,5%) a výtěžnost metody stanovení Lp-PLA₂ dosaženou na našem pracovišti s výsledky v jiných zemích. Bylo zjištěno, že 55 % a více pacientů mělo Lp-PLA₂ vyšší, než je doporučovaná cut-off hodnota přesto, že se jednalo o sledované a často statiny léčené pacienty. Současně byl u těchto pacientů stanoven cholesterol, TG, HDL cholesterol, LDL cholesterol, ApoB, Lp(a), CRP a NT-proBNP. Bylo prokázáno, že z těchto parametrů koncentrace Lp-PLA₂ statisticky významně koresponduje s cholesterolem, LDL cholesterolem, Lp(a) a CRP.

Závěr: Metoda stanovení Lp-PLA₂ byla zavedena, verifikována a představena lékařům interní kardiologické a neurologické kliniky FN Brno. Do budoucna je cílem u pacientů se středním a vysokým kardiovaskulárním rizikem stanovovat Lp-PLA₂ opakovaně, a ověřovat tak efektivitu aterosklerotické léčby.

Klíčová slova: fosfolipáza A₂ asociovaná s lipoproteiny, ateroskleróza, cévní mozková příhoda, infarkt myokardu.

SUMMARY

Beňovská M., Babušíková L., Pařenica J., Tůmová J.: Lipoprotein-associated phospholipase A₂ – significance, method of determination and clinical monitoring

Objective: The goal of this work is the popularization of the new biochemical parameter lipoprotein-associated phospholipase A₂ in relation to atherosclerosis, myocardial infarction and stroke, the presentation of the results of the Enablement international study, which deals with the verification of the methods of determination for this parameter, and the presentation of the results of clinical testing of selected patient groups.

Material and methods: A method for the determination of Lp-PLA₂ was established. We compared the precision (CV_{repeat} = 1,1%, CV_{repro} = 3,5%) and recovery factor of our results of Lp-PLA₂ measurements with results from other countries. It was determined that over 55% of patients had higher Lp-PLA₂ values than the recommended cut-off value despite them being observed and often statin treated. Simultaneously, the values of Chol, TG, HDL, LDL, ApoB, Lp(a), CRP and NT-proBNP were measured for these patients. It was demonstrated that of these parameters, the concentration of Lp-PLA₂ statistically significantly corresponds with cholesterol, LDL cholesterol, Lp(a) and CRP.

Conclusion: The method of determination of Lp-PLA₂ has been established, verified and presented to specialists at the cardiology and neurology clinics of FN Brno. The future goal is to measure Lp-PLA₂ repeatedly for patients with moderate or high cardiovascular risk to determine the efficiency of atherosclerosis treatments.

Key words: lipoprotein-associated phospholipase A₂, Lp-PLA₂, atherosclerosis, stroke, myocardial infarction.

Lp-PLA₂ a její význam

Fosfolipáza A₂ asociovaná s lipoproteiny (Lp-PLA₂) patří mezi nové nadějně biomarkery využitelné v oblasti posuzování rizika aterosklerotického onemocnění [1, 2, 3, 4].

Lp-PLA₂ je enzym známý rovněž pod názvem trombocytů aktivující faktor acetylhydroláza (EC 3.1.1.47, 1-alkyl-2-acetylgllycerophosphocholine esterase). Jedná se o fosfolipázu nezávislou na kalciumu.

Lp-PLA₂ je jedním ze skupiny intracelulárních a sekrečních fosfolipidových enzymů, které hydrolyzují esterovou vazbu lipoproteinů obsaženou v buněčných membránách. Je navázána cca z 80 % na

lipoproteinové částice s nízkou hustotou (LDL), cca z 20 % na lipoproteinové částice s vysokou hustotou (HDL) a v malé míře na lipoprotein (a) (Lp(a)) a ostatní lipoproteiny [5]. Enzym je produkován makrofágy a pěnovými buňkami ve vaskulární intimě. Podílí se na kaskádě zánětu, který probíhá v aterosklerotickém plátu. Při hydrolýze oxidovaných fosfolipidů na povrchu LDL částic tento enzym generuje prozánětlivý mediátor – lyzofosfatidylcholin, který mimo jiné stimuluje expresi mononukleárních leukocytů. Monocyty nasedají na endotel a pomocí cytokinů se dostávají do subendoteliálního prostoru, kde dojde k jejich aktivaci a diferenciaci na makrofágy. Makrofágy fagocytují zejména oxidované LDL částice, a tak dochází v inti-

mě k tvorbě pěnových buněk. Vzhledem k tomu, že Lp-PLA₂ je produkována pouze lokálně v aterosklerotickém plátu, je ve srovnání s C-reaktivním proteinem (CRP) vysoce specifická [6, 7].

Z klinického hlediska je významné odlišení pacientů s vysoce aktivním aterosklerotickým onemocněním od pacientů se stabilním plátem. Stabilizovaní pacienti, třebaže mohou mít vysoký stupeň stenózy, mají aktivitu Lp-PLA₂ nižší. Zvýšená aktivita fosfolipázy A₂ asociované s lipoproteiny podporuje možnost ruptury aterosklerotického plátu. Lp-PLA₂ je proto považována za ukazatel nestability aterosklerotického plátu [1, 6, 8]. U pacientů s rizikovými faktory aterosklerózy, kteří mají zvýšenou hladinu Lp-PLA₂, lze očekávat výrazně vyšší riziko vzniku primární a sekundární kardiovaskulární příhody [1, 9]. Velký význam Lp-PLA₂ je tedy v predikci infarktu myokardu (IM) a cévní mozkové příhody (CMP) i v určení pravděpodobnosti jejich recidivy. V současnosti se popisuje, že při 76 % náhlých kardiovaskulárních úmrtích dojde k ruptuře aterosklerotického plátu a asi 87 % CMP má ischemický charakter. Léčba určená hladinou Lp-PLA₂ by proto mohla vést k redukci vzniku koronárních onemocnění a CMP [10, 11].

Bylo provedeno více než 25 prospektivních epidemiologických studií, které konzistentně ukazují, že ze zvýšené hladiny Lp-PLA₂ lze předvídat kardiovaskulární událost [6]. Pokud je současně zvýšena hodnota Lp-PLA₂ i CRP, je pozorován synergický efekt a riziko IM i CMP je výrazně vyšší [6, 9]. V literatuře je uvedeno, že prognostická síla Lp-PLA₂ je vyšší než stratifikace rizika kardiovaskulární události prováděná podle vysoce senzitivního CRP [12]. Dosud se k posouzení koronárního rizika v široké míře užívaly hladiny cholesterolu a jiných lipidů. Pouze

u 50 % osob s koronárním onemocněním však byly zjištěny zvýšené hladiny cholesterolu [11]. Ještě obtížnější bylo doposud předvídat CMP, neboť zvýšené hodnoty LDL cholesterolu mezi rizikové faktory CMP nepatří [13, 14].

S cílem aktualizovat doporučení American Heart Association/Centers for Disease Control (AHA/CDC) pro posouzení kardiovaskulárního rizika podle rychle se rozvíjejících poznatků o Lp-PLA₂ byla ve spolupráci s komisí US Food and Drug Administration sestavena skupina předních odborníků, která se usnesla na doporučení prezentovaném ve speciálním dodatku k číslu 12 časopisu The American Journal of Cardiology (červen 2008) [9]. Toto doporučení uvádí, že stanovení Lp-PLA₂ má být používáno jako další rizikový parametr pro pacienty se středním nebo vysokým rizikem vzniku kardiovaskulárního onemocnění a dále popisuje hodnoty Lp-PLA₂ následovně:

- Koncentrace Lp-PLA₂ menší než 200 µg/l jsou považovány za nízké.
- Koncentrace Lp-PLA₂ v rozmezí 200-235 µg/l jsou považovány za hraniční.
- Koncentrace Lp-PLA₂ větší než 235 µg/l jsou považovány za vysoké [14].

Podle doporučení je pacient se dvěma rizikovými faktory aterosklerózy klasifikovaný jako středně rizikový reklasifikován v případě, že má současně hladinu Lp-PLA₂ větší než 200 µg/l, do skupiny s vysokým kardiovaskulárním rizikem. Měla by u něj být nasazena intenzivnější léčba statiny vedoucí ke snížení rizikových faktorů aterosklerózy a změněna cílová hodnota LDL cholesterolu z 3,4 mmol/l na 2,6 mmol/l. U pacientů po IM, kteří mají vysoké hodnoty Lp-PLA₂, je doporučena cílová hodnota LDL cholesterolu dokonce 1,8 mmol/l [9] – obrázek 1.

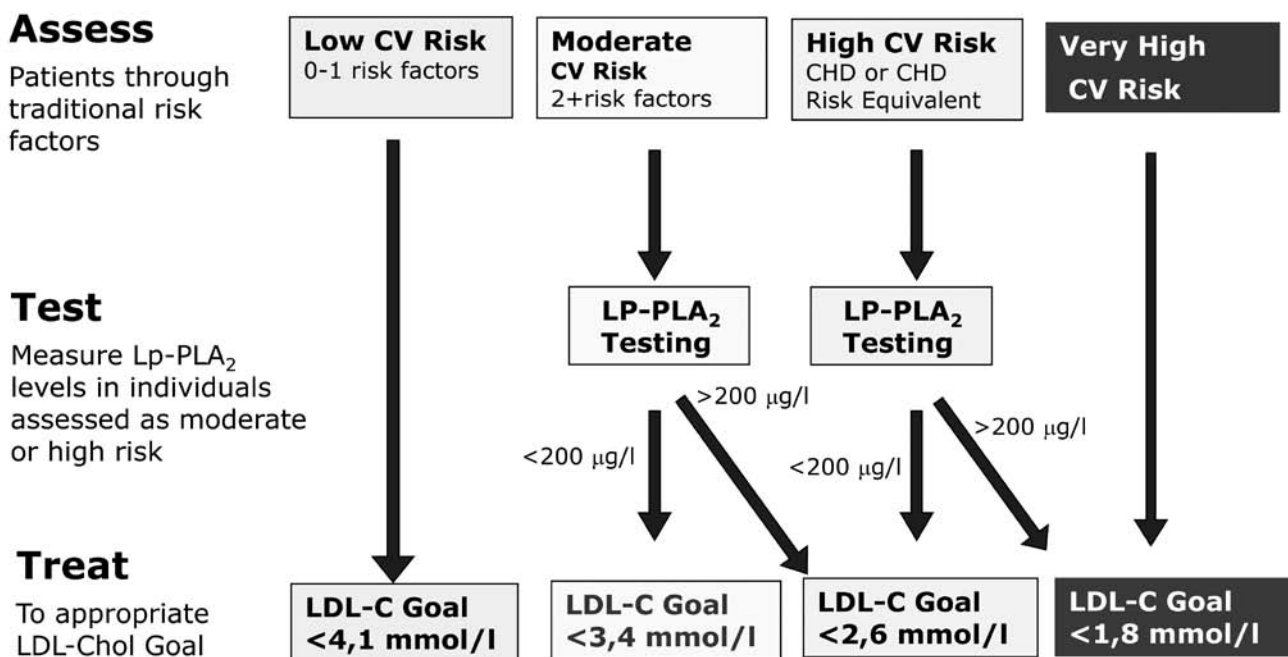


Fig. 1. Recommendation for the use of Lp-PLA₂ (adapted from [3] with agreement of the author)

Cut-off hodnota pro Lp-PLA₂ je tedy 200 µg/l. Doporučená frekvence testování pacientů s kardiovaskulárními problémy a hodnotou Lp-PLA₂ nižší než 200 µg/l je 1krát ročně. Zdá se, že parametr Lp-PLA₂ – na rozdíl od posuzování rizika kardiovaskulárního onemocnění na základě prognostického skóre podle Framinghamu [15] – dobře hodnotí riziko všech etnických skupin [9].

Již v roce 2005 bylo stanovení Lp-PLA₂ schváleno komisí US Food and Drug Administration. Výsledky Lp-PLA₂ ukázaly systematické spojení s rizikem cévní mozkové příhody. Vzhledem k tomu, že CMP je druhou nejčastější příčinou smrti na světě, léčba je finančně velmi náročná a 15–30% pacientů má trvalé následky, přisuzuje se využití stanovení Lp-PLA₂ obrovský význam [10].

Nadějně jsou preklinické studie využívající inhibitor Lp-PLA₂. Bylo zjištěno, že inhibice enzymu Lp-PLA₂ tlumí zánětlivý proces a zpomaluje progresi aterosklerotického onemocnění [1, 16].

Materiál a metody

Metoda stanovení

Lipoproteinová fosfolipáza A₂ v séru či plazmě byla stanovována pomocí soupravy PLAC test od firmy diaDexus, kterou v ČR dodává firma Medista. Firma diaDexus je v současnosti jediná společnost na světě, která soupravu ke stanovení Lp-PLA₂ vyrábí, a to jako set pro automatizovanou imunoturbidimetrickou metodu a set ke stanovení metodou ELISA. Cut-off hodnoty uvedené v této práci jsou navrženy na základě výsledků získaných imunoturbidimetrickou metodou. Jedná se o stanovení založené na reakci Lp-PLA₂ s dvěma vysoce specifickými protilátkami navázanými na polymerní mikročástice. Stanovení lze provádět v séru nebo plazmě (EDTA, heparin). V naší laboratoři byla metoda prováděna na analyzátoru Hitachi 917 (Roche Diagnostics) ve vzorcích séra [17].

Cut-off hodnota (podle výrobce): 200 µg/l pro muže i ženy, bez rozlišení věkových kategorií.

Vyšetření Lp-PLA₂ má výrobcem doporučené speciální podmínky pro měření vzorků. Vzorky lze po odběru analyzovat nejdříve druhý den po zamrazení na -20 °C (minimálně na 16 hod.). Pro skladování delší než 3 dny je nezbytná teplota -70 °C [17].

Studie Enablement

Naše pracoviště přijalo nabídku k účasti na mezinárodní studii Enablement zabývající se stanovením Lp-PLA₂. Cílem studie bylo získat první zkušenosti s metodou vyšetřující Lp-PLA₂ a ověřit analytické parametry tohoto stanovení. Studii organizovala firma diaDexus, která k jejímu provedení rovněž dodala reagenční soupravy, softwarové formuláře ke zpracování výsledků i závazný postup verifikace metody. V rámci této studie se měřily parametry metody Lp-PLA₂ – opakovatelnost, reprodukovatelnost, výtěžnost metody u kalibrátorů a také u souboru 30 dodaných vzorků pacientů měřených v duplikátech. Studie přesně specifikovala, co má být který den provedeno, jak mají být vzorky rozmrazeny a změřeny. Další parametry nepožadované ve studii jako mez stanovitelnosti, rozsah měření atd. nebyly stanovovány, ani ověřovány. V rámci verifikace metody nebyly ověřovány podmínky týkající se doby analýzy a způsobu skladování vzorků po odběru, ale bylo dodrženo doporučení výrobce.

Studie FN Brno

Ve spolupráci s interní kardiologickou klinikou a neurologickou klinikou FN Brno byla stanovena Lp-PLA₂ u pacientů sestavených do čtyř souborů podle diagnózy. Studie byla navržena jako téma bakalářské práce [18]. Cílem bylo získat první naměřené hodnoty Lp-PLA₂ u pacientů s potenciálním či rozvinutým aterosklerotickým onemocněním a na základě vyhodnocení výsledků získat podklady pro eventuální pokračování projektu. Stanovení bylo provedeno u pacientů z grantového projektu IGA – akutní koronární syndrom u mladých pacientů, schváleného etickou komisí FN Brno jako subanalýza. Do prvních dvou skupin byli zařazeni pacienti sledovaní a léčeni v rámci sekundární prevence – po IM a po CMP. Třetí a čtvrtý soubor byl sestaven v rámci primární prevence – z pacientů s nestabilní anginou pectoris (NAP) a pacientů s dyslipidemií (bez bližší specifikace, na rozdíl od ostatních souborů pacientů se nejednalo o pacienty s dlouhodobou léčbou v souvislosti s uvedenou diagnózou). Soubory zahrnovaly muže i ženy ve věku 36–91 roků. V souborech po IM a s NAP byli všichni pacienti léčeni statiny – tabulka 1.

U pacientů byly dále v rámci studie vyšetřeny následující parametry (či převzaty výsledky ordinovaných vyšetření): cholesterol, triacylglyceroly (TG),

Table 1. Basic description of patients (N = 90)

| | Stroke (N = 15) | Dyslipidemia (N = 14) | Myocardial infarction (N = 41) | Angina pectoris (N = 20) | p-value³ |
|--------------------------|----------------------------|----------------------------------|-----------------------------------------------|-------------------------------------|----------------------------|
| Age [years] ¹ | 68 (50–91) ^a | 59 (38–76) ^a | 43 (36–47) ^b | 65 (48–83) ^b | < 0.001* |
| Sex ² | | | | | |
| Men | 73.3% | 21.4% | 90.2% | 55.0% | < 0.001* |
| Women | 26.7% | 78.6% | 9.8% | 45.0% | |

¹ median supplemented by 5th and 95th percentile

² percentage of categories within diagnoses

³ statistical significance of the differences in continuous parameters was analyzed by means of the Kruskal-Wallis test followed by mean rank comparison; the statistical significance of the differences in percentages of categories was analyzed by means of maximum likelihood chi-square; statistically significant results are given in bold and denoted by a *

^{a, b} – categories without statistically significant differences are denoted by the same letter.

HDL cholesterol (HDL), LDL cholesterol (LDL), apolipoprotein B (ApoB), Lp(a), CRP a N-terminální pro-hormon natriuretického peptidu typu B (NT-proBNP). Všechna tato vyšetření byla stanovena reagenčními soupravami firmy Roche Diagnostic na přístroji Modular Analytics metodami používanými rutinně na Oddělení klinické biochemie a hematologie FN Brno. Finanční náročnosti stanovení Lp-PLA₂ a limitovaným možností projektu odpovídá velikost zvolených souborů a to, že nebyla sestavena kontrolní skupina ze zdravých probandů (dříve vyšetřována v rámci rozsáhlých studií [6]).

Poznámka: Koncentrace Lp-PLA₂ v prvních týdnech po IM nebo CMP není stabilní. Vzorby byly z těchto důvodů u pacientů odebírány za 4–5 týdnů po IM či CMP.

Metodika zpracování dat

Pro popis dat byla použita standardní neparametrická statistika. Spojité parametry byly popsány mediánem a percentily, kategoriální parametry procentuálním zastoupením kategorií. Statistická významnost rozdílů spojitých parametrů mezi skupinami pacientů byla analyzována prostřednictvím Kruskalova-Wallisova testu následovaného testem srovnání průměrných pořadí. Vztah mezi kategoriálními daty byl testován chí-kvadrát testem maximální věrohodnosti.

Hodnoty pod limitem kvantifikace byly nahrazeny polovinou limitu kvantifikace (parametr Lp(a) s limitem 0,06 g/l).

Pro statistické analýzy bylo použito software SPSS 17.

Výsledky

Studie Enablement

Tabulky a graf vztahující se ke studii Enablement jsou uvedeny v originální formě vyžadované organizátorem studie (firmou diaDexus) – tabulky 2 a 3, obrázek 2.

Table 2. Repeatability and reproducibility on quality controls for Lp-PLA₂ from Plac test diaDexus

| | Repeatability | | Reproducibility | |
|-------------|---------------|-------|-----------------|--------|
| | QC 1 | QC 2 | QC 1 | QC 2 |
| Mean [µg/l] | 143 | 346,4 | 146,2 | 362,3 |
| SD | 1.589 | 2.978 | 4.492 | 12.859 |
| CV [%] | 1.1 | 0.9 | 3.1 | 3.5 |

(repeatability: n=20, reproducibility: n= 10)

Table 3. Linearity by Calibrator for Lp-PLA₂ Recovery from Plac test diaDexus

| Calibrator value [µg/l] | Measurement 1 recovered [µg/l] | Measurement 2 recovered [µg/l] | Measurement 3 recovered [µg/l] | Average recovered [µg/l] | Average recovery [%] |
|-------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------|----------------------|
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | – |
| 50 | 48 | 49 | 49 | 48.7 | 97.30 |
| 100 | 96 | 96 | 95 | 95.7 | 95.70 |
| 250 | 268 | 270 | 262 | 266.7 | 106.70 |
| 500 | 501 | 498 | 505 | 501.3 | 100.30 |

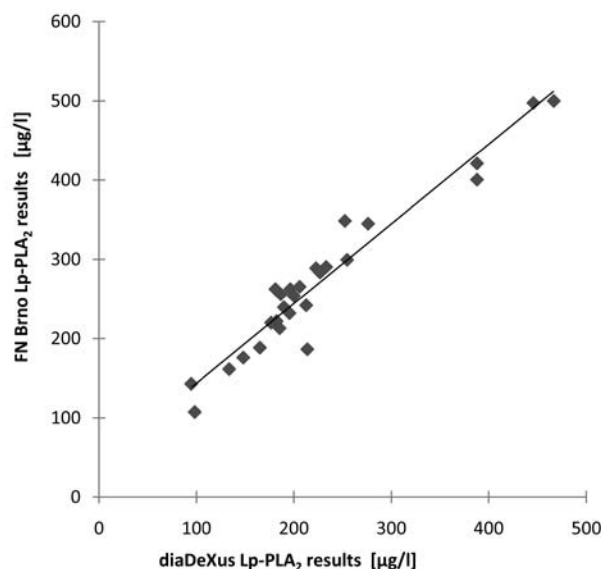


Fig. 2. Plot of Lp-PLA₂ in patient samples – value of diaDexus versus FN Brno

Vyhodnocení studie Enablement

Opakovatelnost s variačním koeficientem do 1,1 %, reprodukovatelnost s variačním koeficientem do 3,5 %, výtěžnost 96–107 % u kalibrátorů a 98–118 % u vzorků pacientů přinesla velmi pozitivní hodnocení od firmy diaDexus a doporučení zavést na našem pracovišti stanovení Lp-PLA₂ do rutinního provozu.

Reagencie současné generace soupravy Plac test společnosti diaDexus vyžadují častou kalibraci, podle našich zkušeností 2krát týdně. Z toho důvodu i vzhledem k tomu, že vzorky se zpracovávaly po rozmrazení, se nám osvědčila analýza vzorků v sérii po kalibraci.

Studie FN Brno

V tabulce 4 jsou uvedeny naměřené hodnoty nově zavedené metody stanovení Lp-PLA₂ a ostatních rutinně analyzovaných parametrů včetně statisticky významných rozdílů mezi jednotlivými skupinami pacientů vyhodnocených Kruskal-Wallis testem.

Tabulka 5 ukazuje na jednotlivých souborech procentuální zastoupení pacientů s patologickými hodnotami – vyššími než cut-off (u Lp-PLA₂, NT-proBNP) či referenční rozmezí (u HDL cholesterolu nižší než referenční rozmezí). Bylo zjištěno, že v souborech pacientů:

- po CMP mělo 80 % pacientů hodnotu Lp-PLA₂ vyšší než 200 µg/l, z toho 27 % hodnotu vyšší než 300 µg/l;
- po IM mělo 56 % pacientů hodnotu Lp-PLA₂ vyšší než 200 µg/l, z toho 15 % hodnotu vyšší než 300 µg/l;

Table 4. Description of the measured values of biochemical parameters in the groups of patients

| | Stroke (N = 15) | Dyslipidemia (N = 14) | Myocardial infarction (N = 41) | Angina pectoris (N = 20) | p-value² |
|--------------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------------------|-------------------------------------|----------------------------|
| Lp-PLA ₂ [µg/l] ¹ | 227 ^a (123–1 464) | 22 ^{1a} (146–450) | 204 ^a (157–366) | 218 ^a (107–440) | 0.652 |
| Cholesterol [mmol/l] ¹ | 4.1 ^a (2.0–8.0) | 7.2 ^b (3.9–8.3) | 4.7 ^a (3.3–6.6) | 4.8 ^a (2.6–6.2) | < 0.001* |
| Triglycerides [mmol/l] ¹ | 1.5 ^a (1.0–6.6) | 1.8 ^a (0.9–6.6) | 1.7 ^a (0.9–6.3) | 1.5 ^a (0.5–4.7) | 0.633 |
| HDL [mmol/l] ¹ | 0.7 ^a (0.3–2.1) | 1.6 ^b (0.9–4.4) | 1.1 ^c (0.8–1.9) | 1.3 ^{bc} (1.0–1.9) | < 0.001* |
| LDL [mmol/l] ¹ | 2.5 ^a (1.0–4.5) | 4.8 ^b (1.8–6.7) | 2.6 ^a (1.3–4.1) | 3.0 ^a (1.0–4.0) | < 0.001* |
| Apo B [g/l] ¹ | 0.6 ^a (0.1–1.6) | 1.2 ^c (0.6–1.7) | 1.0 ^{b, c} (0.6–1.9) | 0.9 ^{a, b} (0.5–1.3) | <0.001* |
| Lp(a) [g/l] ¹ | 0.3 ^a (0.1–1.4) | 0.2 ^a (0.0–1.8) | 0.2 ^a (0.1–2.2) | 0.2 ^a (0.0–1.1) | 0.608 |
| CRP [mg/l] ¹ | 14.4 ^a (1.1–276.4) | 1.9 ^b (1.0–10.1) | 1.8 ^b (1.0–18.1) | 6.1 ^{a, b} (1.0–80.1) | < 0.001* |
| NT-pro BNP [ng/l] ¹ | | | 76.5 (15.2–622.7) | | – |

¹ median supplemented by 5th and 95th percentile

² statistical significance of the differences in continuous parameters was analyzed by means of the Kruskal-Wallis test followed by mean rank comparison; statistically significant results – in bold; *denoted;

a, b, c – categories without statistically significant differences are denoted by the same letter.

Table 5. Percentual ratio of values of biochemical parameters above (below for HDL cholesterol) cut-off or reference range in the groups of patients

| | Stroke (N=15) | Dyslipidemia (N = 14) | Cardiac infarction (N = 41) | Angina pecto- ris (N = 20) | p-value² |
|---------------------------------------------------------------|--------------------------|----------------------------------|--------------------------------------------|---------------------------------------|----------------------------|
| Lp-PLA ₂ >200 µg/l ¹ | 80.0% | 78.6% | 56.1% | 55.0% | 0.174 |
| Cholesterol >5.2 mmol/l ¹ | 20.0% | 92.9% | 29.3% | 40.0% | < 0.001* |
| Triglycerides >2 mmol/l ¹ | 40.0% | 35.7% | 36.6% | 25.0% | 0.771 |
| HDL <1.0 mmol/l ¹ | 66.7% | 7.1% | 19.5% | 5.0% | < 0.001* |
| LDL >3.4 mmol/l ¹ | 13.3% | 85.7% | 24.4% | 30.0% | < 0.001* |
| Apo B >1.33 g/l ¹ | 6.7% | 35.7% | 12.5% | 0.0% | 0.014* |
| Lp(a) >0.3 g/l ¹ | 42.9% | 50.0% | 42.5% | 36.8% | 0.903 |
| CRP >5 mg/l ¹ | 86.7% | 7.1% | 22.0% | 55.6% | < 0.001* |
| NT-proBNP >100 for M (resp. > 150 for F) ng/l ¹ | – | – | 34.1% | – | – |

¹ proportion of patients with the biochemical parameter above defined limit within the given group of patients

² statistical significance of the differences in percentages of the categories was analyzed by means of maximum likelihood chi-square; statistically significant results are given in bold and denoted by a *

- s dyslipidemií mělo 79 % pacientů hodnotu Lp-PLA₂ vyšší než 200 µg/l, z toho 21 % hodnotu vyšší než 300 µg/l;
- s nestabilní anginou pectoris mělo 55 % pacientů hodnotu Lp-PLA₂ vyšší než 200 µg/l, z toho 15 % hodnotu vyšší než 300 µg/l.

U pacientů s koncentrací Lp-PLA₂ nad cut-off hodnotou nebyl mezi jednotlivými soubory zaznamenán statisticky významný rozdíl. U pacientů s choleste-

lem, triacylglyceroly, HDL cholesterolem, LDL cholesterolem, Apo B a CRP vyšším než referenční rozmezí však mezi jednotlivými skupinami statisticky významný rozdíl nalezen byl.

Z obrázku 3 vyplývá souvislost mezi Lp-PLA₂ a ostatními ve studii stanovovanými biochemickými parametry z hlediska referenčních nebo cut-off hodnot. Za statisticky významný lze považovat vztah mezi Lp-PLA₂ a cholesterolem, LDL cholesterolem, Lp(a) a CRP.

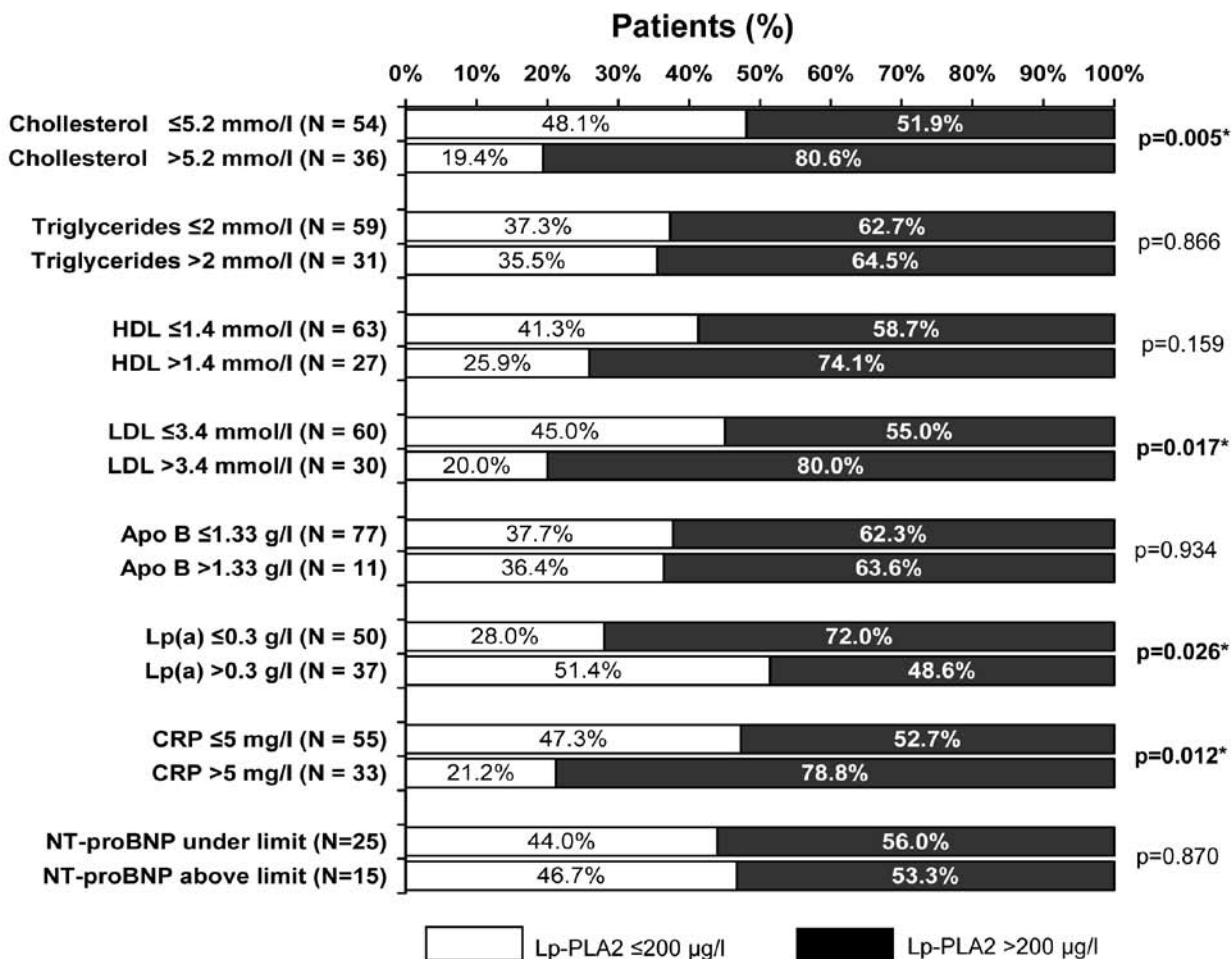


Fig. 3. Association between increased values of Lp-PLA₂ and increased values of other biochemical parameters. The statistical significance of the differences in percentages of the categories was analyzed by means of maximum likelihood chi-square.

Statistically significant results – in bold, * – denoted; the NT-proBNP parameter has a limit of 100 ng/l for men and 150 ng/l for women; this parameter is available for patients with cardiac infarction only.

Hodnocení dosažených výsledků studie FN Brno

Při posuzování souvislostí Lp-PLA₂ s biochemickými parametry analyzovanými při ateroskleróze byly do souboru vyšetření zahrnuty Lp(a) a HDL cholesterol, což v dosud publikovaných pracích chybělo.

Z popisu souborů pacientů vyplývá, že významné procento pacientů z analyzovaných souborů (55 % a více) má koncentraci Lp-PLA₂ vyšší, než je v literatuře doporučovaná cut-off hodnota [9], a to i u pacientů pod přísným lékařským dohledem, u kterých jsou ostatní dosud sledované aterosklerotické markery kompenzovány. Výsledky potvrzují roli Lp-PLA₂ jako relativně nezávislého parametru pro posouzení rizika aterosklerózy, jak je uvedeno např. v literatuře [14].

V souladu s citacemi [1, 9] se ukazuje, že u řady pacientů s rizikovými faktory aterosklerózy nestačí běžně ordinovaná léčba statiny ke snížení koncentrace Lp-PLA₂ pod hodnotu cut-off 200 µg/l, která odráží stabilitu aterosklerotického plátu.

U těchto pacientů se nabízí zvážit doporučení skupiny expertů pod záštitou AHA/CDC z června 2008 – snížit cílové hodnoty LDL cholesterolu, zejména pro pacienty v sekundární prevenci z 3,6 mmol/l na 2,6 mmol/l.

Při srovnání výsledků s dalšími biochemickými markery byla jako statisticky významná prokázána pouze korelace Lp-PLA₂ s cholesterolem, LDL cholesterolem, Lp(a) a CRP, zatímco s ostatními parametry statisticky významná není.

Závěr

Zúčastnili jsme se a splnili veškeré podmínky mezinárodní studie Enablement, v rámci které byla zavedena, verifikována a s úspěchem používána metoda na stanovení fosfolipázy A₂ asociované s lipoproteiny.

Výsledky souborů pacientů analyzovaných v rámci studie FN Brno zaujaly lékaře na klinikách nemocnice. Bylo dohodnuto, že zvýšené koncentrace Lp-PLA₂ budou využívány při intenzivnější léčbě pacientů. V současné době neexistuje terapie přímo ke snížení Lp-PLA₂, ale léčba statiny její hodnotu ovlivňuje.

Projekt dále pokračuje na rozsáhlejší souboru přibližně 500 pacientů. Naší snahou je také realizace opakované analýzy Lp-PLA₂ u pacientů s naměřenými hodnotami výrazně převyšujícími cut-off hodnoty a sledování vývoje této koncentrace v závislosti na léčbě. Dojde-li ke snížení koncentrace Lp-PLA₂, lze

očekávat, že se zvýší stabilita aterosklerotického plátu pacienta [1, 6, 8], a tím se zlepší i jeho prognóza. Léčebná strategie s využitím monitorování Lp-PLA₂ vyžaduje dlouhodobé sledování. Její význam však může být značný jak u pacientů s rizikovými faktory aterosklerózy, tak v rámci sekundární prevence u pacientů po IM a CMP.

Přislíbem do budoucnosti se jeví rozsáhlé studie zabývající se použitím inhibitoru enzymu Lp-PLA₂ [1, 16], což by mohlo velmi výrazně ovlivnit léčbu koronárního a ischemického onemocnění.

Literatura

1. **Anderson, J. L.** Lipoprotein – Associated Phospholipase A₂: An Independent Predictor of Coronary Artery Disease Events in Primary and Secondary Prevention. *Am. J. Cardiol. Suppl.*, 2008, 101, p. 23–33.
2. **Lerman, A., McConnell, J. P.** Lipoprotein – Associated Phospholipase A₂: A Risk Marker or Risk Factor? *Am. J. Cardiol. Suppl.*, 2008, 101, p. 11–22.
3. **Davidson, M. H., Corson, M. A., Alberts, M. J., Anderson, J. L., Gorelick, P. B., Jones, P. H., Lerman, A., McConnell, J. P., Weintraub, H. S.** Consensus Panel Recommendation for Incorporating Lipoprotein – Associated Phospholipase A₂ Testing into Cardiovascular Disease Risk Assessment Guidelines. *Am. J. Cardiol. Suppl.*, 2008, 101, p. 51–57.
4. **Gorelick, P. B.** Lipoprotein – Associated Phospholipase A₂ and Risk of Stroke. *Am. J. Cardiol. Suppl.*, 2008, 101, p. 34–40.
5. **Weintraub, H. S.** Identifying the Vulnerable Patient with Rupture - Prone Plaque. *Am. J. Cardiol. Suppl.*, 2008, 101, p. 3–10.
6. **Ballantyne, C. M., Hoogeveen, R. C., Bang, H., Coresh, J., Folsom, A. R., Chambless, L. E. et al.** Lipoprotein-associated phospholipase A₂, high sensitivity C-reactive protein, and risk for incident ischemic stroke in middle-aged men and women in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Arch. Intern. Med.*, 2005, 165, p. 2479–2484.
7. **Corson, M. A., Jones, P. H., Davidson, M. H.** Review of the Evidence for the Clinical Utility of Lipoprotein – Associated Phospholipase A₂ as a Cardiovascular Risk Marker. *Am. J. Cardiol. Suppl.*, 2008, 101, p. 41–50.
8. **Pudil, R., Engliš, M.** proCardio Symposium: 3rd International Symposium on NT-proBNP. *Labor Aktuell*, 2005, p. 24–27.
9. **Šimek, S.** Intervenční kardiologie na Kongresu ESC 2008 v Mnichově. *Interv. Akut. kardiol.*, 2008, 7, p. 236–237.
10. **Kettner, J.** Nové biomarkery v akutní kardiologii. *Interv. Akut. kardiol.*, 2008, 7, p. 193–199.
11. **Möckel, Ch., Müller, R., Vollert, J. O., Müller, Ch., Danne, O., Gareis, R., Störk, T., Dietz, R., Koenig, W.** Lipoprotein-associated phospholipase A₂ for early risk stratification in patients with suspected acute coronary syndrome: a multi-marker approach. *Clin. Res. Cardiol.*, 2007, 96, p. 604–612.
12. **Cucchiara, B. L., Messe, S. R., Samsung, L., MacKenzie, L., Taylor, R. A., Pacelli, J., Shah, Q., Kasner, S. E.** Lipoprotein-associated phospholipase and c-reactive protein for risk-stratification of patients with TIA. *Stroke*, 2009, 40, p. 2332–2336.
13. **Tselepis, A. D., Chapman, M. J.** Inflammation, bioactive lipids and atherosclerosis: potential roles of a lipoprotein-associated phospholipase A₂, platelet activating factor acetylhydrolase. *Atheroscler. Suppl.*, 2002, 3, p. 57–68.
14. **Semitko, P. E., Wang, Ch. H., Weisel, R. D., Jeffries, G. A., Anderson, T. J., Verma, S.** Biomarkers of vascular disease linking inflammation to endothelial activation. *Circulation*, 2003, 108, p. 2041–2048.
15. **Wilensky, R. L., Shi, Y., Mohler, E. R., Hamamdzc, D., Burgert, M. E., Li, J., Postle, A., Fenning, R. S., Bollinger, J. G., Hoffman, B. E., Pelchovitz, D. J., Yang, J., Mirabile, R. C., Webech, W., Zhang, L., Zhang P., Gelb, M. H., Walker, M. C., Zalewski, A., Macphee, C. H.** Inhibition of lipoprotein-associated phospholipase A₂ reduces complex coronary atherosclerotic plaque development. *Nature Publishing Group*, 2008. Dostupné na: <http://www.nature.com/naturemedicine/>.
16. **Wilson P. W., D'Agostino R. B., Levy D. et al.** Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. *Circulation*, 1998, 97, p. 1837–1847.
17. Příbalový leták soupravy PLAC test firmy diaDexus.
18. **Babušíková, L.** Posouzení výsledků stanovení fosfolipázy A₂ asociované s lipoproteidy Lp-PLA₂ v souvislosti s aterosklerózou. Bakalářská práce, 2009, LF MU Brno.

Do redakce došlo 19. 6. 2009.

Adresa pro korespondenci:
RNDr. Miroslava Beňovská, Ph.D.
OKBH FN Brno
Jihlavská 20
625 00 Brno
e-mail: mbenov@fnbrno.cz