

Fosfolipáza A₂ asociovaná s lipoproteiny - rizikový marker nebo faktor?

J. Franeková, A. Jabor

Fosfolipidy jsou stavební součástí membrán buněk a podobně tvoří také dvojvrstvu na povrchu lipoproteinů. Fosfolipázy hydrolyticky štěpí fosfolipidy na mastné kyseliny a jiné lipofilní substance. Fosfolipázy lze dělit podle molekulové hmotnosti, místa hydrolytického štěpení, vzniku reziduí a nebo na základě závislosti na vápníku. Fosfolipáza A₂ štěpí acylový řetězec v pozici sn-2. Rozlišují se tři typy fosfolipázy A₂: sekreční fosfolipáza A₂ závislá na vápníku (sPLA₂), cytosolová fosfolipáza A₂ (cPLA₂) a fosfolipáza A₂ asociovaná s lipoproteiny (Lipoprotein-associated phospholipase A₂, nezávislá na vápníku, Lp-PLA₂).

Lp-PLA₂ se také označuje jako Platelet-activating factor acetylhydrolase (PAF AH), protože vykazuje schopnost hydrolyzovat destičkový aktivační faktor (PAF). Lp-PLA₂ se tvoří v monocitech, makrofázích, T lymfocytech, žírných buňkách a jaterních buňkách. Největšími producenty Lp-PLA₂ jsou makrofágy a pěnové buňky v subendoteliálním prostoru. Vyšší koncentrace Lp-PLA₂ byly nalezeny v nestabilních aterosklerotických plátech s tenkou fibrózní čapkou a velkým tukovým jádrem, které jsou více náchylné k ruptuře se všemi z toho vyplývajícími důsledky (akutní infarkt myokardu, cévní mozková příhoda). Koncentrace Lp-PLA₂ má tedy vztah více ke kvalitě plátu než k jeho velikosti.

Substrátem pro činnost Lp-PLA₂ jsou fosfolipidy membrán a lipoproteinů, a to především oxidované fosfolipidy. Hydrolyzou fosfolipidů vzniká lysofosfatidylcholin a oxidované mastné kyseliny. V případě zvýšené koncentrace cirkulujících LDL částic se do subendoteliálního prostoru dostává více LDL, dochází ke zvýšené oxidaci LDL, účinkem Lp-PLA₂ se vytváří lysofosfatidylcholin a oxidované mastné kyseliny. Protože k tomuto procesu dochází především v subendoteliálním prostoru, je důsledkem činnosti Lp-PLA₂ a přítomnosti lysofosfatidylcholinu a oxidovaných mastných kyselin zvýšená chemotaxe, monocytů a T-lymfocytů, jejich průnik dysfunkčním endotelem, cytotoxický efekt na hladké svalové buňky, růst nekrotického jádra, ztenčování

fibrózní čapky a vznik nestabilního plátu. Situaci může komplikovat zvýšená koncentrace Lp(a), na který se mohou vázat oxidované fosfolipidy. Lp-PLA₂ v komplexu s Lp(a) hydrolyticky odštěpí z oxidovaných fosfolipidů lysofosfatidylcholin a oxidované mastné kyseliny a patogenní proces se dále amplifikuje (Maiolino, 2015).

Fyziologická funkce vazby Lp-PLA₂ na LDL částice tedy spočívá v protizánětlivém a antiaterogenním účinku, kdy dochází k degradaci faktoru aktivujícího destičky (PAF) a degradaci prozánětlivých oxidovaných fosfolipidů. Současně má ale Lp-PLA₂ i patofyziologickou prozánětlivou a proaterogenní roli, protože přispívá k tvorbě oxidovaných mastných kyselin a lysofosfatidylcholinu. Pokud je Lp-PLA₂ vázána na HDL částice, má spíše protizánětlivou, antiaterogenní a antioxidační roli. Podobnou roli hraje Lp-PLA₂, pokud je asociována s Lp(a) v nízkých koncentracích. Jakmile je ale koncentrace Lp(a) vysoká, dominuje u komplexu Lp(a) s LpPLA₂ prozánětlivý a proaterogenní účinek (Tellis, 2015, Tselepis, 2016).

Lp-PLA₂ – epidemiologické studie

První studie zabývající se rolí Lp-PLA₂ byla West of Scotland Study, publikovaná v roce 2000. Od té doby bylo publikováno více než 25 prospektivních epidemiologických studií, které popisují asociaci mezi Lp-PLA₂ a budoucí kardiovaskulární příhodou a cévní mozkovou příhodou. Výsledky těchto studií byly adjustovány na tradiční rizikové faktory, takže byla Lp-PLA₂ označována jako nezávislý marker i faktor rozvoje aterosklerózy. Jedna z metaanalýz širokého autorského kolektivu (32 prospektivních studií, byla sledována aktivita i koncentrace Lp-PLA₂), upozornila na kontinuální asociaci Lp-PLA₂ a onemocněním koronárních tepen (Thompson, 2010). Překvapivě nebyla žádná ze studií zaměřena na důkaz možných antiaterogenních účinků Lp-PLA₂, jak naznačují práce z okruhu Stafforiniové (Stafforini, 2009, Prescott, 2002).

Použití Lp-PLA₂ pro reklasifikaci kardiovaskulárního rizika

Na základě těchto poznatků byla Lp-PLA₂ zařazena podobně jako CRP do algoritmů hodnocení kardiovaskulárního rizika, kdy u pacientů se středním kardiovaskulárním rizikem (2 a více rizikových faktorů) byla zvýšená koncentrace Lp-PLA₂ důvodem pro reklasifikaci pacienta do skupiny s vysokým rizikem a analogicky v případě vysokého kardiovaskulárního rizika (prokázané onemocnění koronárních tepen) byl pacient při zvýšené Lp-PLA₂ reklasifikován do skupiny s velmi vysokým rizikem (Davidson, 2008). V roce 2010 byla Lp-PLA₂ doporučena k vyšetřování

u dospělých bezpříznakových jedinců se středním kardiovaskulárním rizikem odhadnutým podle skórovacích systémů (2010 ACCF/AHA Guideline for Assessment of Cardiovascular Risk in Asymptomatic Adults; Greenland, 2010). Analogicky byla Lp-PLA₂ zmíněna jako „nezávislý rizikový faktor ruptury plátu a atherotrombotických příhod, který se vyznačuje vysokou konsistencí a precizností“ a je označena jako „test druhé linie pro hodnocení rizika kardiovaskulárních chorob“ (European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012); Perk, 2012). V roce 2016 byla publikována dvě evropská doporučení: 2016 European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (Piepoli, 2016) a 2016 ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidemias (Capatano, 2016), a ani jedno z nich Lp-PLA₂ nezmiňuje a nejsou uvedeny ani biomarkery trombozy, které se ve starších guidelines vyskytovaly.

Klinické studie Lp-PLA₂ se statiny

Fosfolipáza A₂ je ovlivněna terapií statiny. Jednou ze studií byla v roce 2006 publikovaná práce popisující snížení Lp-PLA₂ při terapii atorvastatinem (O'Donoghue, 2006). Terapie 80 mg atorvastatinu vedla ke 20% poklesu aktivity Lp-PLA₂ a byla prokázána asociace zvýšených aktivit Lp-PLA₂ s vysokým rizikem kardiovaskulárních příhod i po adjustaci na LDL cholesterol a CRP.

Klinické studie s darapladibem, inhibítorem Lp-PLA₂

Darapladib byl vyvinut jako perorální inhibitor Lp-PLA₂ (GlaxoSmithKline). První studie s darapladibem (330 pacientů bylo randomizováno do ramen darapladib a placebo) vyzněla optimisticky – po 12 měsících došlo v placebové skupině k nárůstu nekrotického ateromatózního jádra, zatímco ve skupině léčené darapladibem nebyla progresie plátu zaznamenána. Pláty byly hodnoceny metodikou IVUS, tj. intravaskulární sonografií.

S napětím byly očekávány výsledky další studie Stability (Stabilisation of Atherosclerotic plaque By Initiation of darapladib Therapy), ve které bylo randomizováno 15 828 pacientů s vysokým rizikem a chronickým onemocněním koronárních tepen do ramen s darapladibem a s placebem. Bylo prokázáno, že u osob ve čtvrtém kvartilu aktivity Lp-PLA₂ byla zvýšená frekvence kardiovaskulárních úmrtí, akutního infarktu myokardu a iktu. Darapladib velmi efektivně blokoval aktivitu Lp-PLA₂ po celou dobu follow-up (48 měsíců). Bohužel studie ale ukázala, že vliv darapladibu na redukci kardiovaskulárních příhod nebyl v porovnání s placebem významný, a to

ani u pacientů s vysokou bazální aktivitou Lp-PLA₂ (Wallentin, 2014). Lp-PLA₂ bylo tedy možné ve studii Stability označit za marker kariovaskulárního rizika, ale nikoli kauzální faktor.

Posouzení kauzality

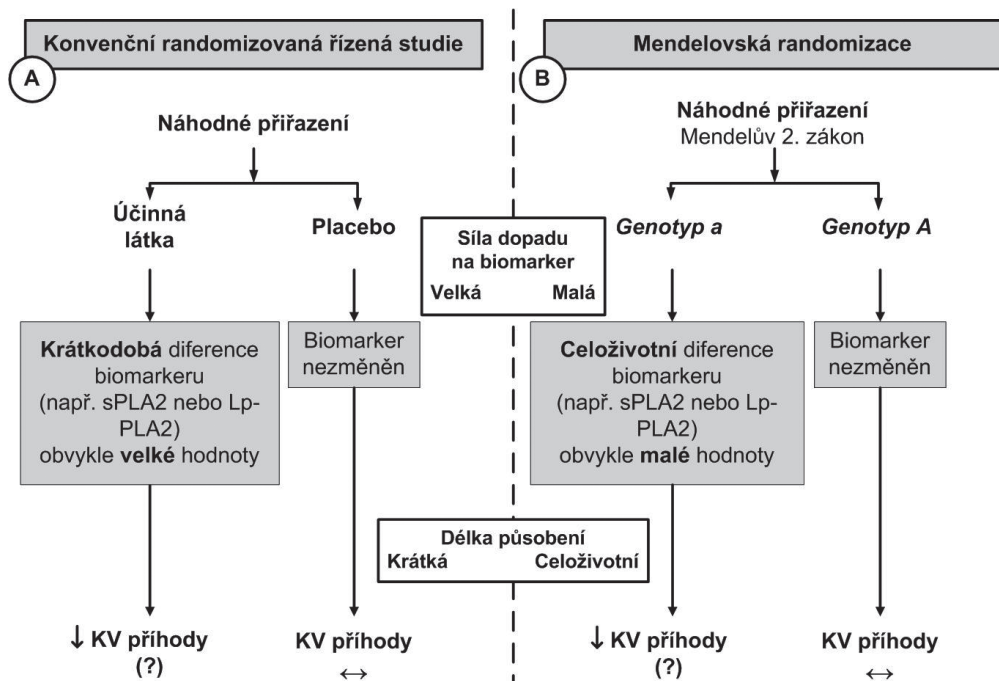
Pro posouzení kauzality vztahu mezi „faktorem“ a „outcome“ lze použít dva přístupy: konvenční randomizovanou řízenou studii nebo mendelovskou randomizaci (Talmud, 2015). Tyto vztahy popisuje obrázek č. 1 (Talmud, 2015, upraveno). V případě konvenčních randomizovaných studií je vybranému vzorku populace náhodně přiřazena intervence (lék) proti placebo. Organismus je působení léku vystaven kratší dobu, ale obvykle jde o větší ovlivnění kauzálního faktoru. Sleduje se očekávaný efekt na kardiovaskulární příhody – snížení po léku, bez efektu u placebo. V případě mendelovské randomizace je podle 2. Mendelova zákona přiřazen náhodně buď genotyp s celoživotně sníženou aktivitou Lp-PLA₂ (ale obvykle jen s mírným snížením) nebo genotyp s normální aktivitou Lp-PLA₂. Analogicky jako u randomizovaných studií se sleduje, zda je snížení aktivity Lp-PLA₂ provázeno nižším výskytem kardiovaskulárních příhod. Výhodou mendelovských randomizací je fakt, že není nutné organizovat finančně náročné studie.

Metodika stanovení

První metody stanovení se týkaly jak koncentrace, tak aktivity Lp-PLA₂. Ve vlastních datech jsme zjistili, že Lp-PLA₂ je nižší u pacientů na terapii statiny, že jsou vyšší koncentrace Lp-PLA₂ u pacientů s akutním koronárním syndromem, ale nepozorovali jsme vztah k mortalitě pacientů sledovaných více než 5 let po akutním infarktu myokardu (Franeková, 2015). V současné době je k dispozici kvalitní metoda stanovení aktivity Lp-PLA₂ (dodává Medista, spol. s r.o.), vyšetření je v Seznamu výkonů (kód 81771, podrobnosti na stránce <http://szv.mzcr.cz/>).

Závěry

Lp-PLA₂ je nezávislý marker kardiovaskulárního rizika, jak vyplynulo z řady studií. Analogicky byla v observačních studiích prokázána role sPLA₂ jako markeru kardiovaskulárních chorob. Kauzální vztah Lp-PLA₂ ke kardiovaskulárnímu riziku nebyl prokázán ani v randomizované studii Stability s darapladibem, ani při použití mendelovské randomizace s geneticky sníženou aktivitou Lp-PLA₂. Podobně ani studie Vista-16 s varespladibem (inhibitor sPLA₂) nebo studie s geneticky sníženou aktivitou sPLA₂ pomocí mendelovské randomizace neprokázaly kauzální vztah sPLA₂ a kardiovaskulárních příhod. Lp-PLA₂ je tedy marker, ale zřejmě nikoli faktor kardiovaskulárního rizika.



Obrázek 1. Porovnání konvenčních randomizovaných řízených studií a mendelovské randomizace (Talmud 2015, upraveno)

Lp-PLA2 byla hodnocena jak pomocí randomizovaných studií, tak pomocí mendelovské randomizace a v obou případech se kauzální vztah neprokázal (Talmud, 2015).

Literatura

1. Catapano AL, Graham I, De Backer G, Wiklund O, Chapman MJ, Drexel H, Hoes AW, Jennings CS, Landmesser U, Pedersen TR, Reiner Z, Riccardi G, Taskinen MR, Tokgozoglul, Verschuren WM, Vlachopoulos C, Wood DA, Zamorano JL; Authors/Task Force Members.; Additional Contributor. 2016 ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias. Eur Heart J. 2016 Oct 14;37(39):2999-3058.
2. Davidson MH, Corson MA, Alberts MJ, Anderson JL, Gorelick PB, Jones PH, Lerman A, McConnell JP, Weintraub HS. Consensus panel recommendation for incorporating lipoprotein-associated phospholipase A₂ testing into cardiovascular disease risk assessment guidelines. Am J Cardiol. 2008 Jun 16;101(12A):51F-57F.
3. Franeková J, Kettner J, Kubíček Z, Jabor A. The importance of age and statin therapy in the interpretation of Lp-PLA(2) in ACS patients, and relation to CRP. Physiol Res. 2015;64(2):229-36.
4. Greenland P, Alpert JS, Beller GA, Benjamin EJ, Budoff MJ, Fayad ZA, Foster E, Hlatky MA, Hodgson JM, Kushner FG, Lauer MS, Shaw LJ, Smith SC Jr, Taylor AJ, Weintraub WS, Wenger NK, Jacobs AK, Smith SC Jr, Anderson JL, Albert N, Buller CE, Creager MA, Ettinger SM, Guyton RA, Halperin JL, Hochman JS, Kushner FG, Nishimura R, Ohman EM, Page RL, Stevenson WG, Tarkington LG, Yancy CW; American College of Cardiology Foundation.; American Heart Association.. 2010 ACCF/AHA guideline for assessment of cardiovascular risk in asymptomatic adults: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. J Am Coll Cardiol. 2010 Dec 14;56(25):e50-103.
5. Maiolino G, Bisogni V, Rossitto G, Rossi GP. Lipoprotein-associated phospholipase A₂ prognostic role in atherosclerotic complications. World J Cardiol. 2015 Oct 26;7(10):609-20.
6. Perk J, De Backer G, Gohlke H, Graham I, Reiner Z, Verschuren M, Albus C, Benlian P, Boysen G, Cifkova R, Deaton C, Ebrahim S, Fisher M, Germano G, Hobbs R, Hoes A, Karadeniz S, Mezzani A, Prescott E, Ryden L, Scherer M, Syväne M, Scholte op Reimer WJ, Vrints C, Wood D, Zamorano JL, Zannad F; European Association for Cardiovascular

- Prevention & Rehabilitation (EACPR); ESC Committee for Practice Guidelines (CPG). European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012). The Fifth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts). *Eur Heart J*. 2012 Jul;33(13):1635-701.
7. O'Donoghue M, Morrow DA, Sabatine MS, Murphy SA, McCabe CH, Cannon CP, Braunwald E. Lipoprotein-associated phospholipase A₂ and its association with cardiovascular outcomes in patients with acute coronary syndromes in the PROVE IT-TIMI 22 (PRavastatin Or atorVastatin Evaluation and Infection Therapy-Thrombolysis In Myocardial Infarction) trial. *Circulation*. 2006 Apr 11;113(14):1745-52.
 8. Piepoli MF, Hoes AW, Agewall S, Albus C, Brotons C, Catapano AL, Cooney MT, Corrà U, Cosyns B, Deaton C, Graham I, Hall MS, Hobbs FD, Løchen ML, Löllgen H, Marques-Vidal P, Perk J, Prescott E, Redon J, Richter DJ, Sattar N, Smulders Y, Tiberi M, van der Worp HB, van Dis I, Verschuren WM; Authors/Task Force Members. 2016 European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: The Sixth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of 10 societies and by invited experts) Developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR). *Eur Heart J*. 2016 Aug 1;37(29):2315-81.
 9. Prescott SM, McIntyre TM, Zimmerman GA, Stafforini DM. Sol Sherry lecture in thrombosis: molecular events in acute inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002 May 1;22(5):727-33.
 10. Stafforini, D.M.: Biology of platelet-activating factor acetylhydrolase (PAF-AH, lipoprotein associated phospholipase A₂). *Cardiovasc Drugs Ther.*, 2009;23(1),73-83.
 11. Talmud PJ, Holmes MV. Deciphering the Causal Role of sPLA₂s and Lp-PLA₂ in Coronary Heart Disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2015 Nov;35(11):2281-9.
 12. Tellis CC, Tselepis AD. The role of lipoprotein-associated phospholipase A₂ in atherosclerosis may depend on its lipoprotein carrier in plasma. *Biochim Biophys Acta*. 2009 May;1791(5):327-38.
 13. Thompson A, Gao P, Orfei L, Watson S, Di Angelantonio E, Kaptoge S, Ballantyne C, Cannon CP, Criqui M, Cushman M, Hofman A, Packard C, Thompson SG, Collins R, Danesh J. Lp-PLA(2) Studies Collaboration. Lipoprotein-associated phospholipase A(2) and risk of coronary disease, stroke, and mortality: collaborative analysis of 32 prospective studies. *Lancet*. 2010 May 1;375(9725):1536-44.
 14. Tselepis AD. Oxidized phospholipids and lipoprotein-associated phospholipase A(2) as important determinants of Lp(a) functionality and pathophysiological role. *J Biomed Res*. 2016 Apr 2;31. May;1791(5):327-38.
 15. Wallentin L, Held C, Armstrong PW, Cannon CP, Davies RY, Granger CB, Hagström, Harrington RA, Hochman JS, Koenig W, Krug-Gourley S, Mohler ER 3rd, Siegbahn A, Tarka E, Steg PG, Stewart RA, Weiss R, Östlund O, White HD; STABILITY Investigators.. Lipoprotein-Associated Phospholipase A₂ Activity Is a Marker of Risk But Not a Useful Target for Treatment in Patients With Stable Coronary Heart Disease. *J Am Heart Assoc*. 2016 Jun 21;5(6).