

Několik poznámek k historii kardiiovaskulárního výzkumu

A. Jabor

Moderní historie kardiiovaskulárního výzkumu začíná v devatenáctém století. V roce 1815 Michel Eugène Chevreul izoloval a purifikoval sterol ze žlučových kamenů a poprvé použil název cholesterol. Přítomnost cholesterolu v lidské krvi popsal Louis René Le Canu (1800 – 1871) v roce 1838. Irský lékař Sir Richard Quain (1816 – 1898) popsal v roce 1852 depozita tuků v cévách a o dva roky později popsal slavný německý lékař – patolog a politik Rudolf Ludwig Karl Virchow aterosklerózu jako chorobu. Postuloval, že ucpání cévy je důsledkem nadměrných depozit cholesterolu. V roce 1885 popsal Liebermann postup stanovení „oxychinoterpenu“ a za dalších pět let Burchard reakci pro stanovení „cholesterinu“ (německý název cholesterolu) zdokonalil a na světě tak byla slavná Liebermannova-Burchardova reakce, která prakticky přežila 100 let. Připomeňme si, že v roce 1886 popsal Max Eduard Jaffé reakci pro stanovení kreatininu, která Liebermannovu-Burchardovu reakci pro stanovení cholesterolu v laboratořích jednoznačně přežila a používá se v části laboratoří dodnes.

Zakladatelem experimentálního kardiiovaskulárního výzkumu byl Nikolaj Nikolajevič Aničkov (1885 – 1964). Vystudoval vojenskou lékařskou akademii v Petrohradu, kde potom jako vědec působil (ve vedoucí funkci po něm působil Klimov – jméno možná dnes známější, přestože význam částečně zapomenutého Aničkova je jistě větší). Aničkov v roce 1913 popsal souvislost mezi cholesterolem a aterosklerózou. Jako animální model zvolil králíky, které krmil purifikovaným cholesterolem (například 82,7 g čistého cholesterolu ve slunečnicovém oleji po dobu 139 dnů nebo 61 vaječnými žloutky v období 70 dnů). Aničkov popsal pěnové buňky, změny v subendotelovém prostoru, léze velkých cév a vše jednoznačně a prokazatelně popsal jako důsledek ukládání cholesterolu. Jeho práce do určité míry navázala na experimenty Ilji Mečnikova (1845 – 1916), nositele Nobelovy ceny z roku 1908 (společně s Paulem Ehrlichem za příspěvek k poznání významu imunity). Mečnikov se zabýval teorií „proteinové toxicity“ a tuto teorii Aničkov svými experimenty sice v podstatě rozbil, ale zrodila se nová „lipidová“ hypotéza aterosklerózy.

V přehledném článku o historii patogeneze aterosklerózy popisuje Steinberg (1) osm hlavních příspěvků Aničkova k poznání mechanismů rozvoje aterosklerózy:

1. popsal tukové proužky a pěnové buňky s obsahem cholesterolu
2. popsal lokality časných lézí (aorta a její oblouk)
3. navrhl podíl hemodynamických faktorů v rozvoji lézí
4. popsal roli pojivové tkáně a vývoj fibrózní čapky
5. zjistil možnou reversibilitu časných lézí
6. popsal vazbu rozsahu lézí na vzestupu koncentrace cholesterolu v krvi a délce expozice zvýšeným koncentracím cholesterolu
7. navrhl možnost, že cholesterol přestupuje do arteriální stěny z krve
8. navrhl, že cholesterolem naplněné buňky byly primárně leukocyty, které infiltrovaly arteriální stěnu.

Bohužel Aničkovy práce, jakkoli byly průkopnické a byly publikovány ve všeobecně vědecky akceptovaných časopisech té doby, nebyly ve své době přijaty. Jedním z důvodů byl použitý animální model (králík), který byl sice šťastně zvolen Aničkovem, ale nebyl běžně používán v jiných laboratořích, kde se pracovalo se psy nebo potkany. Výsledky se proto u jiných animálních modelů nepodařilo zreprodukovat. Dalším důvodem byl fakt, že koncentrace cholesterolu v krvi u králíků krměných vysokocholesterolovou dietou byly extrémně vysoké (12,5 – 25 mmol/l) a proto se význam výsledků Aničkovových experimentů pro humánní medicínu popíral. Steinberg (1) proto uzavírá, že „příležitost byla ztracena“ na dalších 40 let, než byly Aničkovy práce přijaty a potvrzeny.

Třicátá a čtyřicátá léta minulého století byla obdobím, kde se hledala povaha krevních lipoproteinů. Rozhodující práci o ultracentrifugačním stanovení lipoproteinů v lidském séru publikoval John W. Gofman v roce 1949 (2) a otevřel tak cestu následovníkům, kteří se již pohybovali v klinické medicíně (šlo hlavně o práce Fredricksona a Friedewalda). Prakticky ve stejném období, kdy Gofman pracoval s ultracentrifugou, byl zahájen projekt „Framingham Heart Study“. Vedoucím projektu byl Thomas Royle Dawber (1913 – 2005). První kohorta pacientů zahrnovala 2336 mužů a 2873 žen. Pacienti byli sledováni mezi roky 1948 – 1953 a z laboratorních parametrů byly sledovány pouze koncentrace glukózy a cholesterolu, teprve v kohortě potomků sledovaných v letech 1971 – 1975 byl navíc sledo-

ván HDL cholesterol. Je vhodné připomenout, že v padesátých a šedesátých letech minulého století byla stále používána Liebermannova-Burchardova reakce pro stanovení cholesterolu, enzymové stanovení bylo publikováno v *Clinical Chemistry* v roce 1974 (3).

Sedmdesátá léta 20. století byla obdobím, kdy se stanovení lipidů dočkala jednoznačných klinických aplikací. V roce 1971 publikoval Donald Sharp Fredrickson (1924 – 2002) svou klasifikaci „lipidových onemocnění“ (4), jejichž šest typů (I – zvýšení chylomikronů, IIa – zvýšení LDL, IIb – zvýšení LDL a VLDL, III – zvýšení remnantů VLDL a chylomikronů, IV – zvýšení VLDL a V – zvýšení chylomikronů a VLDL) se používalo v diagnostice a léčbě řadu let. Blízkým spolupracovníkem Fredricksona byl William T. Friedewald (nar. 1939), který v roce 1972 publikoval práci popisující možnosti odhadu koncentrace LDL cholesterolu výpočtem bez použití ultracentrifugace. Poukázal, že u „normálních“ osob byla korelace mezi výpočtem a ultracentrifugací velmi dobrá, podobně jako byla dobrá korelace u pacientů s hyperlipoproteinémií typu II podle Fredricksona. U typu IV (se zvýšením triacylglycerolů) byla korelace poměrně volná a Friedewald ukázal, že pro pacienty s triacylglyceroly pod 400 mg/dl (tj. pod 4,52 mmol/l) se korelace zlepšila (ale rozhodně není ideální). Ve Friedewaldově práci lze také najít hodnoty lipidů u „normálních“ osob: cholesterol celkový 4,3 – 7,0 mmol/l, triacylglyceroly 0,23 – 2,08 mmol/l, HDL cholesterol 0,75 – 1,99 mmol/l, LDL cholesterol 1,61 – 4,79 mmol/l a VLDL cholesterol 0 – 1,04 mmol/l (vše stanoveno u 96 jedinců z ultracentrifugačně získaných frakcí). Druhá polovina sedmdesátých let přinesla průlomovou práci Michaela S. Browna (nar. 1941) a Josepha L. Goldsteina (nar. 1940) o receptorech pro LDL cholesterol (6), za kterou obdrželi v roce 1985 Nobelovu cenu „za objasnění genetického podkladu familiární hypercholesterolemie“. Ve stejném roce, kdy Brown a Goldstein publikovali svou práci, objevil Akira Endo (nar. 1933) inhibitor HMG-CoA reduktázy (Compactin) z houby *Penicillium citrinum*. Tím se otevřela cesta ke „statinové éře“, na jejímž počátku stojí lovastatin firmy Merck (Mevacor, první statin schválený FDA v roce 1987). Konec sedmdesátých let je spojen s poznáním role lipoproteinových frakcí LDL a HDL. Z dnešního pohledu banalita, ale na konci sedmdesátých let „nová perspektiva založená na framinghamské studii“, publikovaná Kannelem v roce 1979: „...A relatively large amount of cholesterol in the low-density lipoprotein fraction is atherogenic, whereas that in the high-density fraction

appears protective. The independent contribution of very-low-density lipoprotein and its triglyceride or cholesterol content has, on the other hand, not been established.“ (7). Osmdesátá a devadesátá léta minulého století jsou spojena s velkými studii, rozvojem National Cholesterol Education Program (NCEP) a Adult Treatment Panel (ATP-I, 1987), novými doporučeními a pochopitelně stále přísnějšími požadavky na hodnoty krevních lipidů.

Nové tisíciletí je charakterizováno nejen opakovaně aktualizovanými doporučeními různých autoritativních institucí v Evropě i Spojených státech, ale je také spojeno se snahou používat moderní a automatizované metody stanovení HDL a LDL cholesterolu. Lze ale říci, že tato kapitola klinické biochemie není dosud dopsána a o spolehlivosti našich metod lze stále diskutovat (8, 9). Je zajímavé, že některé milníky v historii kardiiovaskulárního výzkumu patří do období buď překvapivě starších nebo naopak možná neočekávaně nedávných.

1. Steinberg, D.: An interpretive history of the cholesterol controversy: part I. *J. Lipid Res.* 2004;45:1583-1593
2. Gofman, J. W., Lindgren F.T., Elliott, H.: Ultracentrifugal studies of lipoproteins of human serum. *J. Biol. Chem.* 1949; 179: 973-979.
3. Allain, C.C., Poon, L.S., Chan, C.S.G. et al.: Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin. Chem.*, 1974; 20:470-475.
4. Fredrickson, D.S.: An international classification of hyperlipidemias and hyperlipoproteinemias. *Ann. Intern. Med.*, 1971; 75:471-472.
5. Friedewald, W.T., Levy, R.I., Fredrickson, D.S.: Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*, 1972; 18:499-502.
6. Brown, M. S., Goldstein, J.L.: Receptor-mediated control of cholesterol metabolism. *Science*, 1976;191:150-154.
7. Kannel WB, Castelli WP, Gordon T. Cholesterol in the prediction of atherosclerotic disease. New perspectives based on the Framingham study. *Ann Intern Med.* 1979 Jan;90(1):85-91.
8. Miller WG et al: Seven direct methods for measuring HDL and LDL cholesterol compared with ultracentrifugation reference measurement procedures. *Clin Chem.*, 2010;56:977-86.
9. Contois JH et al.: Reliability of low-density lipoprotein cholesterol, non-high-density lipoprotein cholesterol, and apolipoprotein B measurement. *J Clin Lipidol.*, 2011;5:264-72.