

Reverzní transport cholesterolu

Ivana Králová Lesná, Jan Kovář, Rudolf Poledne

*Laboratoř pro výzkum aterosklerózy, Centrum experimentálního výzkumu chorob srdce a cév,
Institut klinické a experimentální medicíny, Praha, Česká republika*

Králová Lesná I, Kovář J, Poledne R (Laboratoř pro výzkum aterosklerózy, Centrum experimentálního výzkumu chorob srdce a cév, Institut klinické a experimentální medicíny, Praha, Česká republika). **Reverzní transport cholesterolu.** *Cor Vasa* 2006;48(3):114–120.

Reverzní transport cholesterolu (RTC), tj. transport cholesterolu z periferie do jater, představuje významný fyziologický mechanismus, v němž hrají zásadní roli částice HDL (high density lipoproteins). Odstraňování nadbytečného cholesterolu z buněk je důležité pro udržení homeostázy cholesterolu v buňkách a uskutečňuje se několika mechanismy. Cholesterol je z buněk odstraňován aktivně především prostřednictvím membránových proteinů označovaných ABCA1 (ATP-binding cassette transporter A1) nebo ABCG1 a ABCG4 (ATP-binding cassette transporter G1 a G4), další cholesterol může opustit buňky pomocí SR-BI (scavenger receptor class B type I) či difúzí. Relativní význam jednotlivých receptorů je závislý na jejich expresi a typu akceptoru cholesterolu, který je k dispozici. Uvolněný nepolární cholesterol je navázán na částice HDL nebo jejich prekurzory, je esterifikován lecitin: cholesterolacyltransferázou (LCAT) na estery cholesterolu a následně transportován do jater. Část HDL-cholesterolu může být v cirkulaci vyměněna za triglyceridy z lipoproteinů obsahujících apolipoprotein B prostřednictvím CETP (cholesterol ester transfer protein) a do jater transportována těmito lipoproteiny. Další část HDL-cholesterolu je v játrech selektivně vychytána pomocí jaterních SR-BI. Přestože cholesterol uvolněný z makrofágů cévní stěny tvoří pouze malou část celkového RTC, má zásadní antiaterogenní význam. Zvýšení efluxu cholesterolu z buněk a urychlení RTC je cílem nových antiaterogenních strategií. Protože koncentrace HDL-cholesterolu nemusí vždy korelovat s jejich schopností podílet se na RTC, je třeba detailně studovat kinetiku jednotlivých kroků RTC.

Klíčová slova: Reverzní transport cholesterolu – HDL – Aterogeneze

Králová Lesná I, Kovář J, Poledne R (Atherosclerosis Research Laboratory, Experimental Cardiovascular Disease Research Center, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague, Czech Republic). **Reverse cholesterol transport.** *Cor Vasa* 2006;48(3):114–120.

Reverse cholesterol transport (RCT), i. e., transport of cholesterol from peripheral tissue to the liver, is an important physiological mechanism whereby a major role is played by high-density lipoprotein (HDL) particles. Removal of excess cholesterol from cells is important for maintaining cholesterol homeostasis in cells and occurs via several mechanisms. Cholesterol is removed from cells actively mainly via membrane proteins called ABCA1 (ATP-binding cassette transporter A1) or ABCG1 and ABCG4 (ATP-binding cassette transporters G1 and G4); additional cholesterol may leave cells via SR-BI (scavenger receptor class B type I) or diffusion. The relative importance of individual receptors depends on their expression and type of the cholesterol acceptor available. Released non-polar cholesterol binds to HDL particles or their precursors, becomes esterified by lecithin: cholesterolacyltransferase (LCAT) to cholesterol esters and subsequently transported to the liver. Part of HDL-cholesterol may be exchanged, in the circulation, for triglycerides from apolipoprotein B-containing lipoproteins via CETP (cholesterol-ester transfer protein) and transported to the liver by these proteins. Another proportion of HDL-cholesterol is selectively uptaken in the liver by hepatic SR-BI. Although the cholesterol released from vascular wall macrophages makes up only a small proportion of total RCT, it has an essential antiatherogenic value. New antiatherogenic strategies are aimed at increasing cholesterol efflux from cells and accelerating RCT. As HDL-cholesterol levels need not necessarily always correlate with their ability to be involved in RCT, it is critical to study in detail the kinetics of individual steps of RCT.

Key words: Reverse cholesterol transport – HDL – Atherogenesis

Adresa: MUDr. Ivana Králová Lesná, Ph.D., Laboratoř pro výzkum aterosklerózy, Centrum experimentálního výzkumu chorob srdce a cév, IKEM, Vídeňská 1958/9, 140 21 Praha 4, Česká republika, e-mail: ivka@medicon.cz

VÝZNAM REVERZNÍHO TRANSPORTU CHOLESTEROLU

Reverzní transport cholesterolu (RTC) je v centru zájmu již mnoho let, neboť jde o základní fyziologický mechanismus jímž periferní tkáně mohou odstranit přebytečný cholesterol. Tvoří tak protiváhu proti transportu cholesterolu do periferních tkání, zprostředkovanému lipoproteiny nízké hustoty (LDL, low density lipoproteins). Podstatou RTC je transport cholesterolu z periferních tkání do jater a jeho konečná exkrece žlučí. V tomto procesu hrají klíčovou roli lipoproteiny vysoké hustoty (HDL, high density lipoproteins), resp. jejich součásti, zejména apolipoprotein A1 (ApoA1).

Vzhledem k tomu, že tento proces probíhá i na makrofázích v aterosklerotických plátech, které zvýšená akumulace lipidů změnila v tzv. pěnové buňky, má studium mechanismů RTC a možností jejich ovlivnění zásadní význam pro pochopení klinického vývoje aterosklerózy a pro vývoj nových terapeutických přístupů.

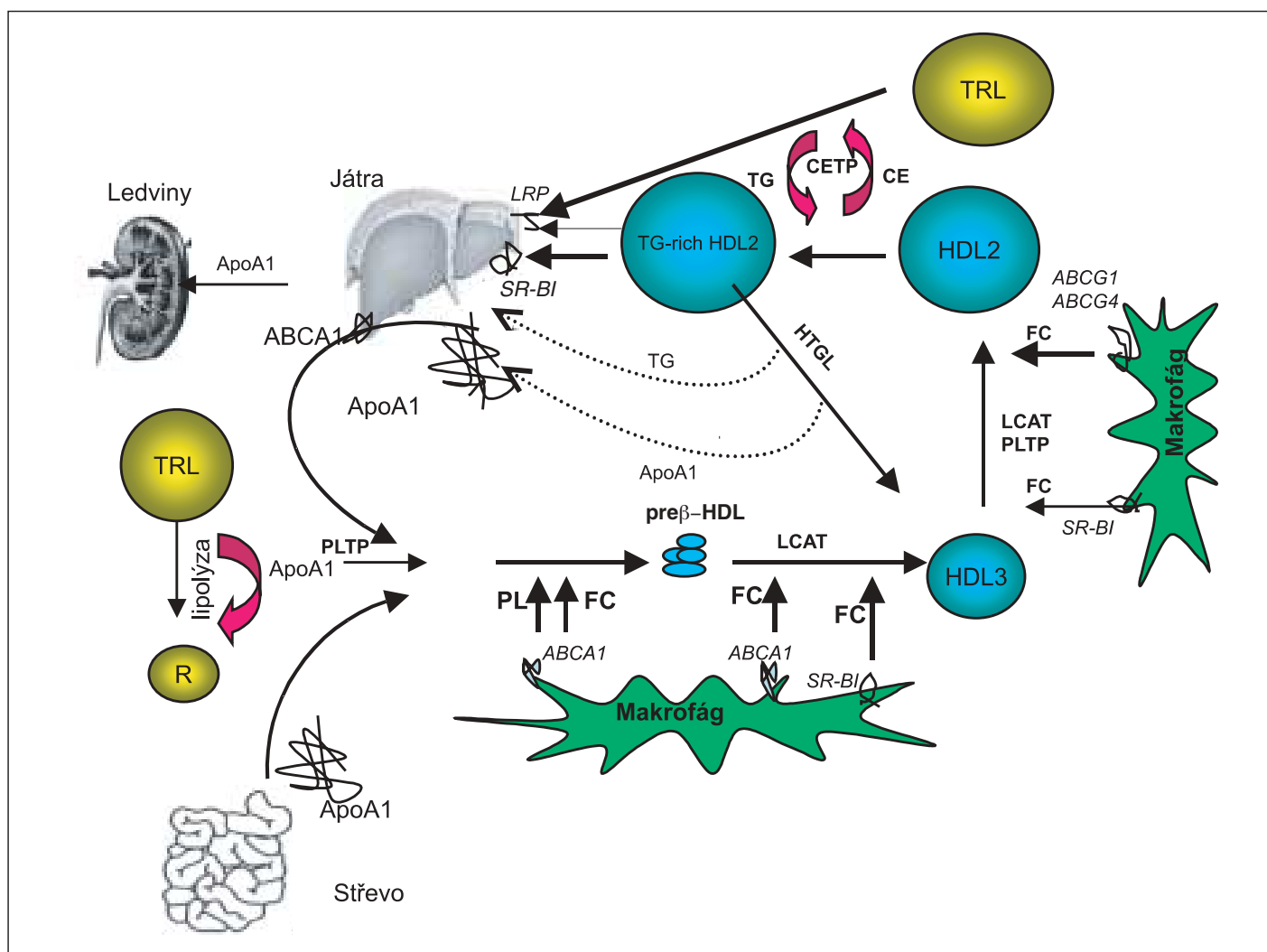
ATEROSKLERÓZA

Ateroskleróza je onemocněním, které v současné populaci dosahuje epidemických rozměrů a již v ranném věku začínají být její první známky pozorovatelné ve středních a velkých arteriích.⁽¹⁾ Tyto známky je možné

Pro aterosklerózu je typická přítomnost cholesterolu v tzv. pěnových buňkách. Tyto pěnové buňky vznikají přeměnou makrofágů a zřejmě i svalových buněk cévní stěny.⁽²⁾ Dále je typická přítomnost oxidovaných částic LDL v subendotelovém prostoru. Oxidované částice mají mnohočetný negativní vliv na cévní stěnu: narušují funkci endotelu a jeho schopnost bránit prostupu

Zásadním pokrokem v kauzální léčbě aterosklerózy byl objev statinů a jejich následné zavedení do terapeutické praxe, nicméně léčba hyperlipoproteinemií vyžaduje kombinovanou terapii zasahující více bodů lipidového metabolismu. Právě reverzní transport cholesterolu je klíčový děj, jehož ovlivnění by mohlo zlepšit progresi aterosklerózy a navodit její regresi.

Zásadní roli v reverzním transportu cholesterolu má vývojový cyklus částic HDL. Tyto částice slouží jako



Seznam použitých zkratek v obrázku

115

univerzální akceptor cholesterolu z buněk, a tím slouží k udržování homeostázy cholesterolu v buňkách. Částice HDL jsou strukturálně i funkčně heterogenní třídou lipoproteinů. Obsahují lipidovou složku (zejména fosfolipidy a cholesterol), bílkovinnou složku (apolipoproteiny, nejvýznamnější je apolipoprotein A1 /ApoA1/), enzymy a proteiny zprostředkující výměnu lipidů mezi lipoproteiny (phospholipid transfer protein /PLTP/, umožňující přenos fosfolipidů mezi jednotlivými lipoproteiny), lecitin: cholesterol-acyltransferáza (LCAT), katalyzující esterifikaci volného cholesterolu a cholesterol-estertransferprotein (CETP), umožňující vzájemnou výměnu nepochárných lipidů mezi jednotlivými lipoproteiny. Podkladem funkční variability jednotlivých subfrakcí je poměrné zastoupení jednotlivých subfrakcí.

Životní cyklus těchto částic (*obrázek 1*) začíná syntézou malých částic, které tvoří hlavně apolipoprotein A1 v játrech a tenkém střevě. Navíc mohou tyto částice, většinou diskovitěho tvaru,⁽³⁾ vznikat i během hydrolýzy částic bohatých na triglyceridy (chylomikrony, VLDL), nebo oddělením z HDL.⁽⁴⁾ Tyto částice mohou nést kromě apolipoproteinu A1 velmi malé množství fosfolipidů (sfingomyelin a fosfatidylcholin), tzv. lipid poor ApoA1 (apolipoprotein A1 s velmi malým množstvím lipidů), nebo jsou tvořeny pouze apolipoproteinem A1, tzv. lipid free ApoA1. Tyto částice jsou po vstupu do oběhu obohaceny o další apolipoproteiny syntetizované v játrech (ApoAII, ApoAIV, apolipoproteiny skupiny C a E). Dalším zdrojem ApoE vázaného na částice HDL jsou makrofágy.⁽⁵⁾

V poslední době bylo prokázáno, že k prvotnímu obohacení částic ApoA1 fosfolipidy dochází ve velké míře přímo v játrech a ve střevě pomocí ATP-binding cassette transportéru A1 (ABC A1), který je na hepatocytech hojně přítomen.^(6,7) Částice obohacené o fosfolipidy jsou pak schopny více vázat cholesterol. Rychlá lipidace ApoA1 v játrech a střevě navíc chrání tyto částice před rychlou degradací. Částice ApoA1 jsou prostřednictvím PLTP dále obohaceny o fosfolipidy a cholesterol během intravaskulární lipolýzy chylomikronů a VLDL (very low density lipoprotein). Interakce ApoA1 s ABCA1 vede k uvolnění buněčného cholesterolu a fosfolipidů a tvorbě tzv. pre-β-HDL. Na povrchu těchto pre-β-HDL jsou vázány CETP,⁽⁸⁾ PLTP,⁽⁹⁾ LCAT⁽⁴⁾ a paraoxonáza.⁽¹⁰⁾ LCAT umožňuje esterifikaci cholesterolu navázaného na HDL a strukturální přestavbu HDL. Zralé HDL₃ jsou pak dále schopny akceptovat další cholesterol, tím zvětšují svůj objem za vzniku částice HDL₂. Z této částice je po obohacení triglyceridy účinkem CETP zpětně regenerován HDL₃ za současného uvolnění lipid poor ApoA1. Během tohoto procesu, který probíhá v játrech, jsou estery cholesterolu z HDL₂ selektivně vychytány zejména pomocí receptorů označovaných jako scavenger receptor class B type I (SR-BI). Vznikající částice lipid poor ApoA1 je uvolněna do oběhu a stává se akceptorem cholesterolu v dalším cyklu.

REVERZNÍ TRANSPORT CHOLESTEROLU

Reverzní transport cholesterolu lze rozložit na následující kroky:

1. intracelulární transport cholesterolu k buněčné membráně,

2. transport cholesterolu přes buněčnou membránu a jeho navázání na částici HDL,
3. funkční změna částice HDL (esterifikace volného cholesterolu účinkem LCAT a přesun těchto nepochárných esterů dovnitř částice HDL),
4. působením cholesterol-ester-transportního proteinu je část cholesterolu z HDL vyměněna za triglyceridy chylomikronů a VLDL (lipoproteinů velmi nízké hustoty) a
5. částice obsahující estery cholesterolu přinesené z periferie jsou vychytány v játrech a pomocí specifických receptorů je cholesterol přenesen do hepatocytů. Ke snížení RTC může vést narušení kteréhokoliv z těchto kroků.

Estery cholesterolu jsou v buňce uchovávány ve formě kapének v cytoplasmě. Reverzní transport cholesterolu je zahájen hydrolýzou pomocí cholesteryl-esterhydrolázy a transportem volného cholesterolu směrem k buněčné membráně.⁽¹¹⁾ Transport přes buněčnou membránu je umožněn třemi mechanismy – aktivně přes ABC receptory (A1, G1 a G4), pasivně přes receptory SR-BI a difuzí volného cholesterolu.

ABCA1⁽¹²⁾ receptor umožňuje transport volného cholesterolu a fosfolipidů z nitra buněk přes buněčnou membránu a jejich navázání na lipid poor ApoA1 nebo lipid free ApoA1. Expres genu kódujícího tento receptor je regulována především tzv. jaterními receptory X (LXR, liver X receptors, jejich ligandy jsou oxysteroly) a retinoidními receptory X (RXR, retinoid X receptors, ligandem je 9-cis retinoidní kyselina). Tyto receptory regulují expresi receptorů ABCA1 v závislosti na celkovém stavu cholesterolu v buňkách. Při zvýšení obsahu cholesterolu v buňkách vzrůstá koncentrace oxysterolů a ty po vazbě na LXR zvýší expresi těchto receptorů. Ačkoliv mechanismus ABCA1 zprostředkovaného výdeje cholesterolu není ještě zcela objasněn, je velmi pravděpodobné, že ABCA1 funguje přímo či nepřímo jako translokáza, jejíž aktivace vazbou ApoA1 vede k akumulaci volného cholesterolu a fosfolipidů na vnější straně cytoplazmatické membrány buněk, kde je navázán na ApoA1 a vznikají částice pre-β-HDL. Je však také známo, že komplex ApoA1 s fosfolipidy je výkonnějším akceptorem cholesterolu v porovnání s lipid free ApoA1. Navíc lipid free ApoA1 v plazmě rychle asociuje se zralými HDL nebo je katabolizován v tubulech ledvin. Je tedy možné, že nejprve dojde po vazbě ApoA1 na ABCA1 k uvolnění fosfolipidů, které vytvoří stabilnější komplexy s ApoA1. Tyto komplexy pak vyvolají na ABCA1 nezávislý eflux cholesterolu.⁽¹³⁾ Obě uvedené možnosti vyžadují ATP jako energetický zdroj. Význam receptoru ABCA1 zřetelně ukazují buňky tkání pacientů s tangierskou nemocí (u kterých chybí funkční receptor ABCA1). U těchto pacientů dochází k intracelulární kumulaci lipidů, zejména v hematopoetických orgánech. Biochemickým obrazem tohoto onemocnění je velmi nízká koncentrace apolipoproteinu A1 (rychlý katabolismus lipid free ApoA1 částic) a HDL-cholesterolu. U těchto pacientů je výrazně snížen reverzní transport cholesterolu do jater. Přestože se tento receptor vyskytuje v tkáních celého těla, je nejvíce zastoupen v játrech, placentě, plicích, nadledvinách, mozku a makrofázích.⁽¹⁴⁾ Ačkoliv ABCA1 v makrofázích přispívá

kvantitativně málo k celkové produkci pre β -HDL,⁽¹⁵⁾ hraje zásadní úlohu v ochraně před akumulací cholesterolu v cévní stěně.⁽¹⁶⁾

Během dalšího kroku vývoje částic HDL dochází k esterifikaci cholesterolu. Tento děj je katalyzován pomocí LCAT. Působením tohoto enzymu, vyžadujícího ApoA1 jako kofaktor, se původně polární molekuly volného cholesterolu pokrývající povrch částice mění na jeho hydrofobní estery, které se přesouvají do jádra částice HDL. Tím vzniká větší sférická částice HDL₃, obsahující nepolární jádro, a i tato částice je schopna dále vázat volný cholesterol uvolněný z buněk prostřednictvím ABCG1 a ABCG4, SR-BI a difuzí.⁽⁴⁾

Aktivní transport cholesterolu na zralé částice HDL zajišťují i další receptory z rodiny receptorů ABC – tzv. ABCG1 a ABCG4. Na rozdíl od ABCA1, který reaguje pouze s částicemi obsahujícími kromě ApoA1 pouze malé nebo žádné množství lipidů, receptory ABCG1 a ABCG4 předávají buněčný cholesterol na zralé, lipidy bohaté částice HDL. ABCG1 jsou přítomny zejména na makrofázích a byl prokázán jejich vliv na patogenezi aterosklerózy.⁽¹⁷⁾ Nakolik se tyto receptory podílejí na celkovém RTC není nicméně zatím zřejmé. Schopnost ABCG1 umožnit odsun cholesterolu z makrofágů by mohla mít velký význam v aterosklerotických plátech, neboť množství zralých HDL₃ v plazmě výrazně převyšuje množství lipid poor a lipid free ApoA1. Receptory ABCG4 jsou přítomny na makrofázích jen v menší míře, ale jsou přítomny ve velké míře v mozku. Vzhledem k tomu, že byla prokázána přítomnost částic HDL-like v mozkomíšním moku,⁽¹⁸⁾ je možné, že tyto receptory mají význam pro výdej cholesterolu z buněk mozku.

Receptory SR-BI umožňují obousměrný tok cholesterolu, který závisí na gradientu cholesterolu uvnitř a vně buněk.⁽¹⁴⁾ SR-BI je zřejmě zodpovědný za přeměnu monocytů na makrofágy a následnou přeměnu makrofágů na pěnové buňky. Vzhledem k přítomnosti receptorů SR-BI na svalových buňkách ve stěnách cév⁽¹⁹⁾ je pravděpodobný i význam těchto receptorů pro přeměnu zmíněných myocytů na pěnové buňky. SR-BI se dále podílejí na vychytávání oxidovaných částic LDL⁽¹⁴⁾ a vykazují tedy proaterogenní účinek. Nicméně tyto receptory se zřejmě účastní i RTC a umožňují eflux intracelulárního cholesterolu z pěnových buněk na HDL⁽²⁰⁾ a mají tedy i protiaaterogenní vliv. V patogenezi aterosklerózy se zřejmě uplatňují obě výše uvedené možnosti.

Část cholesterolu je schopna se uvolnit z buněk i prostou difuzí.⁽²¹⁾ Stejně jako v případě SR-BI se přesun cholesterolu uskutečňuje pouze ve směru koncentračního gradientu.

Není zatím přesně stanoveno, jaký je kvantitativní příspěvek jednotlivých výše uváděných mechanismů k celkovému RTC. Nicméně je prokázáno, že ABCA1 a SR-BI hrají důležitou roli v tvorbě a metabolismu sérových lipoproteinů a udržování homeostázy cholesterolu. Dále je zřejmé, že tyto role jsou částečně propojené. Studie Chena a spol.⁽²²⁾ prokázala, že exprese SR-BI na makrofázích vedla ke snížení ABCA1 zprostředkovaného efluxu cholesterolu, zatímco eflux fosfolipidů zůstal nezměněn. Studie zvažovala dva možné mechanismy tohoto ovlivnění. Jednak je možné, že receptor SR-BI poskytl kanál, kterým by původně uvolněný cholesterol mohl být,

umožnil-li to koncentrační gradient vrácený do buněk. Další možností je, že aktivace SR-BI receptoru vedla k reorganizaci membránových lipidů tak, že neumožnila přesun cholesterolu pomocí ABCA1. Přesný význam tohoto propojení není znám, nicméně by mohl mít význam pro tvorbu stabilních, na fosfolipidy bohatých HDL s velkou schopností přijímat cholesterol z dalších periferních buněk.

Částice HDL₃ dále v intravaskulárním prostoru získává cholesterol a fosfolipidy uvolněné při hydrolýze triglyceridů z VLDL a chylomikronů (označovaných jako triglyceride-rich lipoproteins, TRL). Ty jsou přenášeny prostřednictvím PLTP a vzniká větší částice HDL₂. Na částice HDL₂ jsou dále přenášeny molekuly triglyceridů z TRL výměnou za estery cholesterolu. Vzájemná výměna esterů cholesterolu a triglyceridů mezi HDL₂ a TRL (a v menší míře i LDL) je zprostředkována CETP a vede ke snížení koncentrace cholesterolu a zvýšení koncentrace triglyceridů v HDL. Vzhledem k tomu, že triglyceridové molekuly jsou větší než molekuly esterů cholesterolu, částice HDL dále zvětšuje objem. Takto modifikované HDL₂ jsou pak vhodným substrátem pro jaterní lipázu,⁽²³⁾ která hydrolyzuje jejich triglyceridy a fosfolipidy. Z částic HDL₂ tak vznikají HDL₃, pre β -HDL a lipid poor ApoA1 či lipid free ApoA1.

V konečné fázi cyklu částic HDL jsou tyto částice delipidovány, a to několika cestami. K nejdůležitějším zřejmě patří selektivní vychytávání volného cholesterolu i jeho esterů pomocí jaterního receptoru SR-BI.⁽²⁴⁾ Tento receptor umožní navázání částice HDL, která nicméně není hydrolyzována, ale vstupuje do hepatocytů pomocí endocytózy a po odebrání cholesterolu je re-sekretována ve formě diskovité částice, která je schopna na sebe opět vázat lipidy. K tomuto ději dochází i v buňkách, které produkují steroidní hormony a pro tyto buňky představuje zmíněná cesta významný zdroj sterolového jádra.⁽²⁵⁾

Odstranění cholesterolu ze zralých HDL se může uskutečnit i vychytáváním celých částic pomocí receptoru označovaného jako LRP (LDL-receptor related protein), na který se s vysokou afinitou váže apolipoprotein E, který může být přítomen na povrchu částic HDL.

Cholesterol, který byl z HDL přenesen na TRL (nesoucích apolipoprotein B₁₀₀ a apolipoprotein E) je z cirkulace odstraněn s těmito lipoproteiny po jejich vazbě na LRP či LDL-R.⁽²⁶⁾ V menší míře se na rozpoznávání a vychytávání částic obsahujících ApoB₁₀₀ podílejí i receptory SR-BI.⁽¹⁴⁾

Vychytávání TRL a HDL pomocí LRP je umožněno zejména díky přítomnosti ApoE v těchto lipoproteinech. Tento apolipoprotein je tvořen hlavně v játrech a v menší míře i v makrofázích, kde je jeho produkce regulována pomocí ABCA1.⁽²⁷⁾

VÝZNAM HDL PRO PATOGENEZI ATEROSKLERÓZY

Význam nízké koncentrace HDL, jako rizikového faktoru kardiovaskulárních onemocnění, byl nejprve prokázán v rozsáhlé Millerově studii⁽²⁸⁾ a opakovaně potvrzen.^(29–31) V rozsáhlém projektu PROCAM (PROspective CARDiovascular Munster Heart Study) byla incidence koronárního onemocnění čtyřikrát větší u mužů středního věku s koncentrací HDL-choleste-

rolu pod 0,9 mmol/l, než u srovnatelných mužů s koncentrací HDL-cholesterolu nad 0,9 mmol/l. Bylo také prokázáno, že nízká koncentrace HDL-cholesterolu je rizikovým faktorem nezávislým na koncentraci LDL-cholesterolu.

Zásadní význam HDL pro patogenezi aterosklerózy je dán tím, že eflux nadbytečného cholesterolu z pěnových buněk v aterosklerotických plátech probíhá stejnými mechanismy jako z ostatních buněk. V pěnových buňkách, původem z makrofágů nebo z hladké svaloviny cév, vede intracelulární akumulace cholesterolu k zvýšené expresi ABCA1^(19,32) a produkci ApoE.⁽³³⁾

U částic HDL byly pak prokázány i další antiaterogenní účinky, které nesouvisí s RTC. Jde zejména o zabránění oxidace LDL a následnému negativnímu působení oxidovaných LDL. Částice HDL pomáhají udržovat fyziologickou schopnost endotelu, tj. zlepšují schopnost narušeného endotelu tvořit NO. Infuze HDL vede k zvýšení vazorelaxace závislé na endotelu u pacientů s familiární hypercholesterolemií^(34,35) a dále brání poškození endotelu vyvolanému aktivací komplementu.⁽³⁶⁾ In vitro byl u HDL prokázán jejich antioxidační, protizánětlivý (inhibice chemotaxe leukocytů na endotel a zabránění aktivace komplementu) a antiagregační účinek (inhibice aktivace destiček). Uplatňují se i při regulaci koagulace a fibrinolýzy⁽³⁷⁾ a brání apoptóze buněk, jež je vyvolaná oxidovanými LDL.

MOŽNOSTI OVLIVNĚNÍ KONCENTRACE HDL

Koncentraci HDL lze pozitivně ovlivnit zvýšením pohybové aktivity,⁽³⁸⁾ redukcí hmotnosti⁽³⁹⁾ a ukončením kouření.⁽⁴⁰⁾ Není ovšem zcela jisté, zda je zvýšení koncentrace HDL v těchto situacích spojeno se zvýšeným RTC. Přitom právě zvýšení RTC je podle současných znalostí důležitou možností k zastavení vývoje a případně k regresi aterosklerózy.

V klinické praxi jsou nyní ke zvýšení koncentrace HDL používány statiny, fibráty a kyselina nikotinová (niacin).⁽⁴¹⁾ Je ale jasné, že dosud používaná hypolipidemika účinněji snižují LDL-cholesterol v porovnání se zvyšováním HDL-cholesterolu.

Vliv statinů na koncentraci HDL je sice významný, nicméně kvantitativně malý, a proto je terapie zaměřená spíše na druhé dvě skupiny.

Fibráty primárně zvyšují katabolismus TRL a vzhledem k inverznímu vztahu mezi koncentracemi TRL a HDL vede jejich podání ke zvýšení koncentrace HDL. Nicméně fibráty ovlivňují metabolismus HDL i na úrovni buněčné transkripce – ovlivněním jaderného transkripčního faktoru (peroxisome proliferator-activated receptor /PPAR/), který vede k zvýšení syntézy apoA1 v játrech,⁽⁴²⁾ a tím k tvorbě nových částic HDL. Vzhledem k tomu, že fibráty neovlivňují zásadně koncentraci LDL, jsou tyto látky zejména vhodné v kombinaci se statiny k léčbě tzv. metabolického syndromu, jehož integrální součástí jsou zvýšená koncentrace triglyceridů a snížená koncentrace HDL.

Mechanismus, kterým nikotinová kyselina vede ke zvýšení koncentrace HDL, není dosud zcela objasněn. Sakai a spol. zjistili,⁽⁴³⁾ že in vitro vede niacin ke snížení vychytávání ApoA1 z částic HDL kultivovanými

hepatocyty. Tím přispívá k zachování strukturální a funkční integrity částic HDL opouštějících játra po odevzdání cholesterolu, jejich recirkulaci a zvýšení reverzního transportu cholesterolu.⁽⁴⁴⁾ Přes velmi pozitivní údaje z klinických studií zatím brání širšímu použití této látky nepříznivé vedlejší účinky, ke kterým patří uvolňování prostaglandinů (s „flush-účinkem“), hyperglykemie, hyperurikemie a toxický vliv na játra. Tyto nežádoucí účinky se však u některých forem niacinu s prodlouženým účinkem podařilo minimalizovat.

Klinický výzkum je v současné době zaměřen na několik skupin látek.

Inhibitory CETP, enzymu vázaného na HDL a usnadňujícího vzájemnou výměnu esterů cholesterolu z HDL a triglyceridů z TRL, jsou zřejmě nejperspektivnějšími látkami, u kterých jsou zkoumány jejich možnosti použití v praxi. Jejich podání vede ke zvýšení koncentrace HDL až o 40–60 %. Tyto částice obsahují velké množství cholesterolu a jsou větší než běžné HDL a není zcela jasné, nakolik se účastní RTC. Jsou známy dvě mutace vedoucí k nízké koncentraci CETP u lidí, které se vyskytují endemicky v Japonsku,⁽⁴⁵⁾ ale je sporné, zda jsou nositelé těchto mutací chráněni proti rozvoji aterosklerózy.⁽⁴⁶⁾ Možnosti uměle snížit aktivitu tohoto enzymu jsou intenzivně zkoumány. V současné klinické studii⁽⁴⁷⁾ podávání inhibitoru CETP vedlo ke zvýšení koncentrace HDL a snížení koncentrace LDL s tím, že tyto účinky byly synergistické při kombinované léčbě se statiny.

Ve vývoji jsou dále další agonisté nukleárních transkripčních receptorů – PPAR. Tyto agonisté jsou na rozdíl od fibrátů, ovlivňujících PPAR s nízkou selektivitou, vysoce senzitivní pro jednotlivé subtypy PPAR (α , γ a δ).⁽⁴¹⁾ Společným znakem genů regulovaných tímto receptorem je jejich vliv na tukový metabolismus. K těmto látkám patří například i glitazony, které mají vysokou afinitu k PPAR γ , nicméně výsledky z klinických studií s nimi jsou nejednoznačné.

LXR a RXR zasahují mnoho klíčových molekul zprostředkujících výdej cholesterolu z buněk. Agonisté pro tyto receptory mají antiaterogenní účinky při pokusech na myších, nicméně pozorované nežádoucí účinky spojené s aplikací, tj. hypertriglyceridemie a steatóza jater, v současnosti brání jejich klinickému využití.

Dalším cílem výzkumu je možnost zvýšení koncentrace ApoA1, a to jak zvýšením exprese jeho genu tak jeho přímým dodáním do cirkulace. Je známo, že některé látky (fenobarbital, prednison, alkohol, estrogeny aj.) vedou ke zvýšení syntézy ApoA1. Nicméně jejich použití v této indikaci je velmi limitováno jejich vedlejšími účinky. Alternativně je také zvažováno přímé podání ApoA1 do cirkulace, a to buď jako infuze rekombinantních komplexů ApoA1 s fosfolipidy, nebo peptidů, které napodobují strukturu ApoA1. V roce 1980 popsali Franceschini a spol.⁽⁴⁸⁾ přirozeně se vyskytující mutaci ApoA1 (ApoA1/Milano), jejíž nositelé jsou navzdory nízké koncentraci HDL chráněni proti ateroskleróze. Nissen a spol.⁽⁴⁹⁾ ukázali signifikantní zmenšení koronárních aterosklerotických plátů, měřené intravaskulárním ultrazvukem, již po pěti dávkách komplexů ApoA1/Milano s fosfolipidy, podaných v týdenních intervalech.

SLEDOVÁNÍ FAKTORŮ REVERZNÍHO TRANSPORTU CHOLESTEROLU V PRAXI A INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Koncentrace HDL popisuje pouze jeden krok složitého procesu RTC; základním problémem využití poznatků o RTC je, že v rutinní praxi v nemocnici jsou laboratoře schopny měřit pouze koncentraci HDL a ApoA1. Samotné měření koncentrace ApoA1 navíc poskytuje oproti klasickému stanovení HDL v praxi pouze omezeně využitelné informace, i když při analýze velkých skupin⁽⁵⁰⁾ se ukázalo, že poměr ApoB/ApoA1 má největší význam pro predikci kardiovaskulárního rizika. Ostatní parametry RTC, např. preβ-HDL nebo rychlost esterifikace cholesterolu v částicích HDL,⁽⁵¹⁾ není v dnešní době možné měřit v rutinních biochemických laboratořích nemocnic, tj. jejich význam v současnosti je pouze v oblasti výzkumu. Navíc ani parametry, které jsme schopni v rutinních podmínkách stanovit, nelze vždy jednoznačně interpretovat. Při některých dietních opatřeních (snížení poměru nasycených a nenasycených kyselin v dietě) dochází spolu s poklesem LDL i k mírnému poklesu HDL. Za toto snížení však může zodpovídat kvalitativní změna HDL či změna na jakémkoli dalším kroku RTC, a proto přímé měření RTC by přineslo zcela novou informaci o aktuální změně individuálního rizika po režimových opatřeních. Kromě toho může být schopnost částic HDL odsouvat cholesterol z periferie ovlivněna i dalšími faktory, např. senzitivitou k inzulinu a funkcí lipolytického systému.⁽⁵²⁾ Skutečnost, že přítomnost laboratorně stanovených částic HDL nemusí korelovat s jejich funkčním stavem a antiaterogenicitou tak, jak byla výše popsána, byla demonstrována například v experimentu, který uskutečnili Rigotti a spol.⁽⁵³⁾ U myši s chybějícím SR-BI bylo pozorováno zvýšení koncentrace HDL-cholesterolu, který byl vázán v abnormálně velkých částicích obsahujících kromě ApoA1 i velké množství cholesterolu. Tyto abnormální částice nejsou však schopny zajistit RTC a svědčí o proaterogenním stavu organismu.⁽⁵⁴⁾ Dalším důvodem, proč korelace koncentrací HDL s klinickým obrazem kardiovaskulárních chorob je obtížně stanovitelná, je skutečnost, že funkce HDL je velmi mnohočetná (HDL je například negativním reaktantem akutní fáze a pokles jeho koncentrace může být také znakem celkového či lokálního zánětu, např. přítomnosti mnohočetných zánětlivých ložisek v postižených arteriích) a jen velmi obtížně lze jednotlivé účinky od sebe oddělit. Navíc je pouze výjimečně pozorován izolovaný defekt koncentrace HDL – většinou je kombinován s některým dalším symptomem tzv. metabolického syndromu.

ZÁVĚR

Reverzní transport cholesterolu by měl být posuzován jako cyklický děj, ve kterém játra mají zásadní roli v udržování dostupnosti akceptorů cholesterolu v oběhu. Intervence do metabolismu HDL a zlepšení reverzního transportu cholesterolu je výzvou pro vývoj nových antiaterogenních léčebných strategií. Důležité je, že zásadní význam pro určení aterogenního rizika má nikoliv koncentrace HDL, ale kinetika metabolismu HDL. Detailní porozumění kinetice změn HDL

může zásadně přispět i klinické praxi. Mohlo by například pomoci posoudit, zda pokles koncentrace HDL při dietní intervenci nebo vzestup při požívání alkoholu jsou skutečně obrazem změn v RTC.

LITERATURA

1. Berenson GS, Srinivasan SR, Bao W, Newman WP 3rd, Tracy RE, Wattigney WA. Association between multiple cardiovascular risk factors and atherosclerosis in children and young adults. The Bogalusa Heart Study. *N Engl J Med* 1998;338:1650–6.
2. Witztum JL, Steinberg D. Role of oxidized low density lipoprotein in atherogenesis. *J Clin Invest* 1991;88:1785–92.
3. Forte TM, McCall MR, Amacher S, Nordhausen RW, Vigne JL, Mallory JB. Physical and chemical characteristics of apolipoprotein A-I-lipid complexes produced by Chinese hamster ovary cells transfected with the human apolipoprotein A-I gene. *Biochim Biophys Acta* 1990;1047:11–8.
4. von Eckardstein A, Hersberger M, Rohrer L. Current understanding of the metabolism and biological actions of HDL. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2005;8:147–52.
5. Van Eck M, Heijgers N, Yates J, et al. Bone marrow transplantation in apolipoprotein E-deficient mice. Effect of ApoE gene dosage on serum lipid concentrations, (beta)VLDL catabolism, and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:3117–26.
6. Kiss RS, McManus DC, Franklin V, et al. The lipidation by hepatocytes of human apolipoprotein A-I occurs by both ABCA1-dependent and -independent pathways. *J Biol Chem* 2003;278:10119–27.
7. Timmins JM, Lee JY, Mulya A, et al. Tissue-specific hepatic deletion of ABCA1 indicates that the liver is the primary site of HDL formation in vivo. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24:E2.
8. Tall AR. Plasma cholesteryl ester transfer protein. *J Lipid Res* 1993;34:1255–74.
9. Tall AR, Lallanne F. Phospholipid transfer protein and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:1484–5.
10. Rosenblat M, Vaya J, Shih D, Aviram M. Paraoxonase 1 (PON1) enhances HDL-mediated macrophage cholesterol efflux via the ABCA1 transporter in association with increased HDL binding to the cells: a possible role for lysophosphatidylcholine. *Atheroscler* 2005;179:69–77.
11. HO YK, Brown MS, Goldstein JL. Hydrolysis and excretion of cytoplasmic cholesteryl esters by macrophages: stimulation by high density lipoprotein and other agents. *J Lipid Res* 1980;21:391–8.
12. Lee JY, Parks JS. ATP-binding cassette transporter A1 and its role in HDL formation. *Curr Opin Lipidol* 2005;16:19–25.
13. Wang N, Silver DL, Thiele C, Tall AR. ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1) functions as a cholesterol efflux regulatory protein. *J Biol Chem* 2001;276:23742–7.
14. Van Eck M, Pennings M, Hoekstra M, Out R, Van Berkel TJC. Scavenger receptor BI and ATP-binding cassette transporter A1 in reverse cholesterol transport and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 2005;16:307–15.
15. Haghpassand M, Bourassa PA, Francone OL, Aiello RJ. Monocyte/macrophage expression of ABCA1 has minimal contribution to plasma HDL levels. *J Clin Invest* 2001;108:1315–20.
16. Lewis GF, Rader DJ. New insights into the regulation of HDL metabolism and reverse cholesterol transport. *Circ Res* 2005;96:1221–32.
17. Wang N, Lan D, Chen W, Matsuura F, Tall A. ATP-binding cassette transporters G1 and G4 mediate cellular cholesterol efflux to high-density lipoproteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;29:101.

18. Koch S, Donarksi N, Goetze K, et al. Characterization of four lipoprotein classes in human cerebrospinal fluid. *J Lipid Res* 2001;42:1143–51.
19. Oram JF, Brinton EA, Bierman EL. Regulation of high density lipoprotein receptor activity in cultured human skin fibroblasts and human arterial smooth muscle cells. *J Clin Invest* 1983;72:1611–21.
20. Ji Y, Jian B, Wang N. Scavenger receptor BI promotes high density lipoprotein-mediated cellular cholesterol efflux. *J Biol Chem* 1997;272:20982–5.
21. Yancey PG, Bortnick AE, Kellner-Weibel G, et al. Importance of different pathways of cellular cholesterol efflux. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:712–9.
22. Chen W, Silver DL, Smith JD, Tall AR. Scavenger receptor-BI inhibits ATP-binding cassette transporter 1-mediated cholesterol efflux in macrophages. *J Biol Chem* 2000;275:30794–800.
23. Barter PJ. Hugh sinclair lecture: the regulation and remodelling of HDL by plasma factors. *Atheroscler* 2002; Suppl 3:39–47.
24. Trigatti BL, Krieger M, Rigotti A. Influence of the HDL receptor SR-BI on lipoprotein metabolism and atherosclerosis. *Arterioscler Tromb Vasc Biol* 2003;23:1732–8.
25. Nakagawa-Toyama Y, Hirano K, Tsujii K, et al. Human scavenger receptor class B type I is expressed with cell-specific fashion in both initial and terminal site of reverse cholesterol transport. *Atheroscler* 2005;183:75–83.
26. Van Eck M, Van Dijk KW, Herijgers N, et al. Essential role for the (hepatic) LDL receptor in macrophage apolipoprotein E-induced reduction in serum cholesterol levels and atherosclerosis. *Atheroscler* 2001;154:103–12.
27. Von Eckardstein A, Langer C, Engel T, et al. ATP binding cassette transporter ABCA1 modulates the secretion of apolipoprotein E from human monocyte-derived macrophages. *FASEB J* 2001;15:1555–61.
28. Miller NE, Thelle DS, Forde OH, Mjos OD. The Tromso heart-study. High-density lipoprotein and coronary heart-disease: a prospective case-control study. *Lancet* 1977; 1(8019):965–8.
29. Gordon DJ, Rifkind BM. High-density lipoprotein—the clinical implications of recent studies. *N Engl J Med* 1989;321:1311–6.
30. Genest J, Mc Namara J, Salem DN, Schaefer EJ. Prevalence of risk factors in men with premature coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1991;67:1185–9.
31. Franceschini G. Epidemiologic evidence for high-density lipoprotein cholesterol as a risk factor for coronary artery disease. *Am J Cardiol* 2001;88 (12A):9N–13N.
32. Langmann T, Klucken J, Reil M, et al. Molecular cloning of the human ATP-binding cassette transporter 1 (hABC1): evidence for sterol-dependent regulation in macrophages. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;257:29–33.
33. Mazzone T. Apolipoprotein E secretion by macrophages: its potential physiological functions. *Curr Opin Lipidol* 1996;7:303–7.
34. Spieker LE, Sudano I, Hurlimann D, et al. High-density lipoprotein restores endothelial function in hypercholesterolemia. *Circulation* 2002;105:1399–402.
35. Biensondial RJ, Hoving GK, Levels JH, et al. Restoration of endothelial function by increasing high density lipoprotein in subjects with isolated low high density lipoprotein. *Circulation* 2003;107:2944–8.
36. Rosenfeld SI, Packman CH, Leddy JP. Inhibition of the lytic action of cell-bound terminal complement components by human high density lipoproteins and apoproteins. *J Clin Invest* 1983;71:795–808.
37. Nofer J, Kehrel B, Fobker M, et al. HDL and arteriosclerosis: beyond reverse cholesterol transport. *Atherosclerosis* 2002;161:1–16.
38. Dufaux B, Order U, Muller R, Hollmann W. Delayed effects of prolonged exercise on serum lipoproteins. *Metabolism* 1986;35:105–9.
39. Karason K, Wikstrand J, Sjostrom L, Wendelhag I. Weight loss and progression of early atherosclerosis in the carotid artery: a four-year controlled study of obese subjects. *Int J Obes Relat Metab Dis* 1999;23:948–56.
40. Maeda K, Noguchi Y, Fukui T. The effects of cessation from cigarette smoking on the lipid and lipoprotein profiles: a meta-analysis. *Prev Med* 2003;37:283–90.
41. Linsel-Nitschke P, Tall AR. HDL as a target in the treatment of atherosclerotic cardiovascular disease. *Nat Rev Drug Discov* 2005;4:193–205.
42. Neele DM, Kaptein A, Huisman H, de Witt EC, Princen HM. No effect of fibrates on synthesis of apolipoprotein(a) in primary cultures of cynomolgus monkey and human hepatocytes: apolipoprotein A-I synthesis increased. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;244:374–8.
43. Sakai T, Kamanna VS, Kashyap ML. Niacin, but not gemfibrozil, selectively increases LP-AI, a cardioprotective subfraction of HDL, in patients with low HDL cholesterol. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:1783–9.
44. McKenney J. New perspectives on the use of niacin in the treatment of lipid disorders. *Arch Intern Med* 2004; 164:697–705.
45. Inazu A, Brown ML, Hesler CB, et al. Increased high-density lipoprotein levels caused by a common cholesterol-ester transfer protein gene mutation. *N Engl J Med* 1990;323:1234–8.
46. Yamashita S, Maruyama T, Hirano K, et al. Molecular mechanisms, lipoprotein abnormalities and atherogenicity of hyperalphalipoproteinemia. *Atherosclerosis* 2000;152:271–85.
47. Brousseau ME, Schaefer EJ, Wolfe ML, et al. Effects of an inhibitor of cholesterol ester transfer protein on HDL cholesterol. *N Engl J Med* 2004;350:1505–15.
48. Franceschini G, Sirtori CR, Capurso A 2nd, Weisgraber KH, Mahley RW. A-I Milano apoprotein. Decreased high density lipoprotein cholesterol levels with significant lipoprotein modifications and without clinical atherosclerosis in an Italian family. *J Clin Invest* 1980;66: 892–900.
49. 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;290:2292–300.
50. Walldius G, Jungner I, Aastveit AH, Holme I, Furberg CD, Sniderman AD. The apoB/apoA-I ratio is better than the cholesterol ratios to estimate the balance between plasma proatherogenic and antiatherogenic lipoproteins and to predict coronary risk. *Clin Chem Lab Med* 2004;42:1355–63.
51. Fröhlich 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;49:1873–80.
52. Dullard RPF, von Tol A. Twenty four hour insulin infusion impairs the ability of plasma from healthy subjects and Type 2 diabetic patients to promote cellular cholesterol efflux. *Atherosclerosis* 2001;157:49–56.
53. Rigotti A, Trigatti BL, Penman M, Rayburn H, Herz J, Krieger M. A targeted mutation in the murine gene encoding the high density lipoprotein (HDL) receptor scavenger receptor class B type I reveals its key role in HDL metabolism. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94: 12610–5.
54. Van Eck M, Twisk J, Hoekstra M, et al. Differential effects of scavenger receptor BI deficiency on lipid metabolism in cells of the arterial wall and in the liver. *J Biol Chem* 2003;278:23699–705.

Došlo do redakce 15. 10. 2005

Přijato po úpravách 5. 1. 2006