

## DYSLIPIDÉMIA A KARDIOVASKULÁRNE RIZIKO

Hubková B.<sup>1</sup>, Carbonell Capó C.<sup>1</sup>, Birková A.<sup>1</sup>, Čižmarová B.<sup>1</sup>, Onačillová E.<sup>2</sup>, Vaňová N.<sup>4</sup>, Vargová V.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Ústav lekárskej a klinickej biochémie UPJŠ LF, Košice

<sup>2</sup> Ústav verejného zdravotníctva a hygieny UPJŠ LF, Košice

<sup>3</sup> I. interná klinika UPJŠ LF, Košice

<sup>4</sup> Interná klinika UPJŠ LF a Nemocnice Košice-Šaca a.s., Košice

**Cieľ** Cieľom predloženej práce bolo skúmanie vzťahu medzi aterogenitou vyjadrenou cez cholesterol v subfrakciách lipoproteínov a homocysteínom.

**Materiál a metodika** Tento vzťah sme skúmali u pacientov s dyslipidémiou, u ktorých sme očakávali zvýšené hladiny homocysteínu a zvýšený podiel aterogénnych frakcií lipoproteínov s vysokou (HDL) aj nízkou hustotou (LDL). Merania sme uskutočnili aj u probandov bez prítomnosti dyslipidémie. Subfrakcionácia cholesterolu bola vykonaná metódou Lipoprint®.

**Výsledky** Preukázali sme výraznejší súvis medzi subfrakciami lipoproteínov a homocysteínom, než medzi celkovým cholesterolom a homocysteínom. Medzi cholesterolom v aterogénnych frakciách a homocysteínom sme preukázali pozitívnu koreláciu. Vysoké koncentrácie cholesterolu v menej aterogénnych a protiaterogénnych frakciách korelovali s poklesom koncentrácie homocysteínu. Štatisticky signifikantne pozitívne korelácie sme zaznamenali medzi homocysteínom a cholesterolom v aterogénnych subfrakciách HDL 6 a 7 u zdravých jedincov. U dyslipidemikov sme preukázali štatisticky signifikantný súvis medzi homocysteínom a neaterogénnymi frakciami HDL 1.

**Záver** Rozdielne trendy regresie medzi homocysteínom a cholesterolom v subfrakciách lipoproteínov pozorované u dyslipidemikov a normolipidemikov naznačujú modifikáciu lipoproteínov počas abnormálnej metabolizácie lipidov u dyslipidemikov. Význam stanovenia cholesterolu v subfrakciách lipoproteínov vo vzťahu k homocysteínu majú za cieľ napomáhať pri správnom stanovení diagnózy a pri personalizovanej liečbe dyslipidémie.

**KLúčové slová:** cholesterol, lipoproteín, subfrakcia, homocysteín, dyslipidémia, ateroskleróza

### Úvod

Dyslipidémia je jednou z najčastejších chorôb na svete. Je charakterizovaná zvýšenými plazmatickými hladinami celkového cholesterolu, triacylglycerolov, cholesterolu v lipoproteínoch s nízkou hustotou (LDL-C) alebo so zníženou hladinou cholesterolu v lipoproteínoch vysokej hustoty (HDL-C) [2]. Je známa aj ako tichý zabijak vďaka svojej neskorej a zvyčajne fatálnej manifestácii. Je častou príčinou aterosklerózy. Prejavuje sa srdcovými, cievnymi poruchami, náhlou cievnu mozgovou príhodou, arteriálnou hypertenziou, infarktomyokardu. Klasifikácia dyslipidémie je založená buď na patologicky zvýšenej hodnote lipidového parametra, alebo na príčine vzniku ochorenia. Podľa prvej klasifikácie rozlišujeme hypercholesterolémiu, hypertriacylglycerolémiu, hyperlipoproteinémiu, ktoré môžu byť izolované alebo kombinované. Medzi najčastejšie príčiny dyslipidémie patria geneticky podmienené primárne dyslipidémie, do popredia sa však dostávajú sekundárne ochorenia, pri ktorých sa dyslipidémia vyvíja až v dôsledku iného ochorenia. Príkladom je stúpajúca incidencia kardiovaskulárnych ochorení u celiakov [5] alebo ako sprievodné ochorenie kongenitálnej analbuminémie už aj u novorodencov [8].

Klinická liečba dyslipidémie sa zameriava na patologicky zvýšený lipidový parameter. Personalizovaná liečba by však mala zohľadniť nie len kvantitu ale aj kvalitu pozmeneného parametra. Práve z tejto snahy vznikla definícia „aterogénna dyslipidémia“. Tento termín pomenúva triádu pozmenených hodnôt: hypertriacylglycerolémiu, zvýšenú hladinu LDL-C a zníženú hladinu HDL-C. Je

však naďalej otáznou, či kombinácia týchto parametrov poukazuje na reálne riziko aterogenity. Cieľom predloženej práce je preukázať prepojenie medzi subfrakciami lipoproteínov na základe aterogenity a homocysteínom, ktorý predstavuje zápalový marker srdcových a cievnych chorôb.

### Cieľ

Cieľom predloženej práce bolo skúmanie vzťahu medzi aterogenitou vyjadrenou cholesterolom v subfrakciách lipoproteínov a homocysteínom. Vzťah sme skúmali u pacientov s dyslipidémiou, u ktorých sme očakávali zvýšené hladiny homocysteínu a zvýšený podiel aterogénnych frakcií lipoproteínov. Merania sme uskutočnili aj u normolipidemikov.

### Materiál a metodika

Predložená práca vznikla pri riešení projektu zameraného na zdravé chudnutie a úpravu lipidového profilu obéznych pacientov. Projekt zabezpečovala I. interná klinika LF UPJŠ v Košiciach v spolupráci s metabolickou ambulanciou Svet Zdravia a Ústavom lekárskej a klinickej biochémie UPJŠ LF v Košiciach. Spomedzi účastníkov projektu sa vybralo 6 pacientov s hypercholesterolémiou a zvýšenou hladinou LDL-C (traja muži a tri ženy; priemerný vek  $36 \pm 8$  rokov) tvoriacich skupinu pacientov s dyslipidémiou. Šesť probandov štúdie, bez pozmenených parametrov lipidového profilu (traja muži a tri ženy; priemerný vek  $31 \pm 6$  rokov), tvorili kontrolnú skupinu.

Elektroforetická separácia lipoproteínov vysokej aj nízkej hustoty bola vykonaná systémom Lipoprint® Lipo-

protein Subfractions Testing System (Quantimetrix, US). Separáciou LDL častíc sa rozlíšili nasledujúce subfrakcie:

- 1 frakcia lipoproteínov s veľmi nízkou hustotou (VLDL),
  - 3 frakcie lipoproteínov so strednou hustotou (IDL): IDL A, IDL B a IDL C,
  - 7 frakcií LDL:
- priemerom veľká, málo aterogénna frakcia LDL 1,
- viac aterogénna frakcia väčších lipoproteínov nižšej hustoty LDL 2,
- malé, denzné aterogénne frakcie LDL 3 až 7.

Frakcionáciou HDL častíc dokážeme rozlíšiť 10 frakcií HDL:

- protiatrogénne frakcie HDL 1, 2 a 3, obsahujúce najväčšie lipoproteíny spomedzi HDL,
- stredne veľké frakcie HDL 4 až 7,
- aterogénne frakcie HDL 8, 9 a 10, obsahujúce malé molekuly HDL.

Naviazanie lipofilného farbiva na cholesterol umožňuje nie len zviditeľnenie jednotlivých subfrakcií, ale aj kvantifikáciu cholesterolu v lipoproteínových subfrakciách. Jednou z výhod systému Lipoprint je aj ľahko čitateľný, farebne kódovaný graf, znázorňujúci kvantifikáciu cholesterolu v percentách aj v jednotkách využívaných v Spojených štátoch, v mg/dL, ktoré sa však dajú prepočítať na jednotku používanú na Slovensku (mmol/L, Obr. 1; Obr. 2).

Figure 1 Color coded graph with LDL subfractions

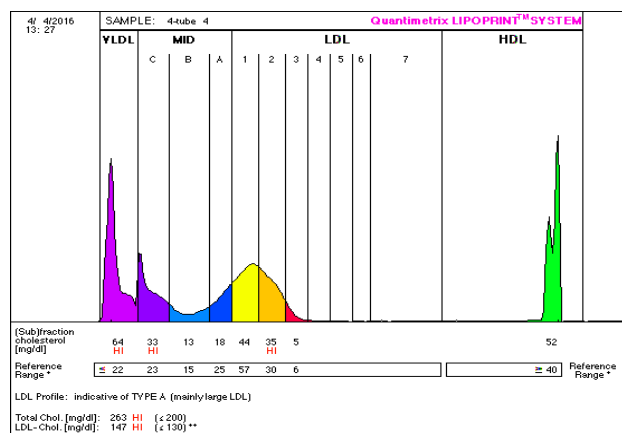
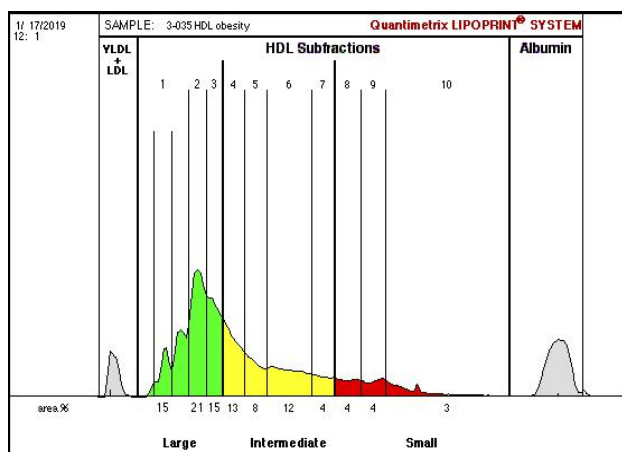


Figure 2 Color coded graph with HDL subfractions



Štatistická analýza bola spracovaná použitím programu SPSS Statistics 22 (IBM).

## Výsledky

Základný lipidový profil, ako aj koncentrácie glykémie a homocysteínu probandov štúdie, sú zosumarizované v tabuľke 1 (Tab. 1). Pacienti s dyslipidémiou mali patologicky zvýšené hladiny celkového cholesterolu (nad 5 mmol/L; minimálna hodnota 5,29 mmol/L, maximálna hodnota 7,24 mmol/L) a LDL-C (nad 3 mmol/L; minimálna hodnota 3,12 mmol/L, maximálna hodnota 4,88 mmol/L). Hladina HDL-C kolísala v rozmedzí od 0,90 do 1,61 mmol/L, zníženú hladinu pod 1,0 (u mužov) resp. pod 1,4 mmol/L (u žien) sme zaznamenali u jedného pacienta. Hodnoty triacylglycerolov boli v rozmedzí 1,01 až 4,05 mmol/L. Hypertriacylglycerolémiu vykazovali dvaja pacienti, z ktorých jeden zároveň vykazoval parametre prítomnosti aterogénnej dyslipidémie.

Table 1 Blood serum parameters of study participants

Blood serum parameters	Dyslipidemic patients n = 6	Control group n = 6
Total cholesterol [mmol/L]	6.25 ± 0.77	4.59 ± 0.29 p=0,007**
Triglycerides [mmol/L]	1.83 ± 1.13	1.09 ± 0.38
LDL-C [mmol/L]	4.00 ± 0.68	2.84 ± 0.17 p=0,009**
HDL-C [mmol/L]	1.37 ± 0.25	1.29 ± 0.24 p=0,004**
Blood glucose [mmol/L]	4.72 ± 0.46	4.53 ± 0.41
Homocysteine [μmol/L]	13.27 ± 4.31	13.90 ± 4.34

Hladiny lipidových parametrov v kontrolnej skupine boli v rozmedzí fyziologických hodnôt.

Minimálna hodnota homocysteínu v skupine dyslipidémických pacientov bola 10,00 μmol/L a maximálna 21,80 μmol/L. Patologické hladiny nad 15 μmol/L sme zaznamenali len u jedného pacienta, ten však nemal diagnostikovanú aterogénnu dyslipidémiu. Priemerné hodnoty homocysteínu v kontrolnej skupine boli veľmi podobné (v kontrolnej skupine 13,90 ± 4,34 μmol/L, u dyslipidémikov 13,27 ± 4,31 μmol/L), s minimom 9,21 a maximom 19,22 μmol/L. Patologickú hodnotu sme zaznamenali až v prípade dvoch normolipidemických probandov (patologické hodnoty 19,14 a 19,22 μmol/L).

Priemerné hodnoty cholesterolu v príslušných frakciách lipoproteínov sú zaznamenané v tabuľke 2 (Tab. 2). Hodnoty cholesterolu vo VLDL frakcii boli v oboch skupinách nad odporúčanú hladinu 22 mg/dL (0,57 mmol/L), s mierne vyššími hladinami u pacientov s dyslipidémiou. Hodnoty cholesterolu v IDL frakciách boli takisto vyššie u pacientov, avšak v medziach odporúčaných hodnôt (IDL C ≤ 23 mg/dL, IDL B ≤ 15 mg/dL, IDL A ≤ 25 mg/dL, spolu ≤ 1,63 mmol/L). Štatisticky významný rozdiel sme zaznamenali v hladinách cholesterolu v LDL 1 frakcii medzi pacientami a kontrolnou skupinou, pričom hodnotu nad odporúčanú hladinu 57 mg/dL (1,47 mmol/L) sme

zaznamenali len u jedného dyslipidemického pacienta (1,59 mmol/L). Dvojnásobne vyššie hladiny avšak bez významného rozdielu sme zaznamenali v hodnotách cholesterolu v LDL 2 frakcii u pacientov s dyslipidémiou oproti kontrolnej skupine. Odporúčané hodnoty vo frakciách LDL 3 a vo frakciách LDL 4 až 7 majú byť pod 6 resp. pod 0 mg/dL (0,16 mmol/L resp. 0,00 mmol/L). Tie sa neprekročili ani v jednej skupine probandov. Výrobca

nešpecifikuje odporúčané hladiny pre frakcie HDL cholesterolu. V kontrolnej skupine prevládali protiaterogénne frakcie HDL 1 až 3 ( $0,38 \pm 0,23$  mmol/L oproti  $0,36 \pm 0,17$  mmol/L u dyslipidemikov) a v skupine dyslipidemických pacientov aterogénne frakcie HDL 4 až 10 ( $1,12 \pm 0,20$  mmol/L oproti  $0,93 \pm 0,11$  mmol/L v kontrolnej skupine).

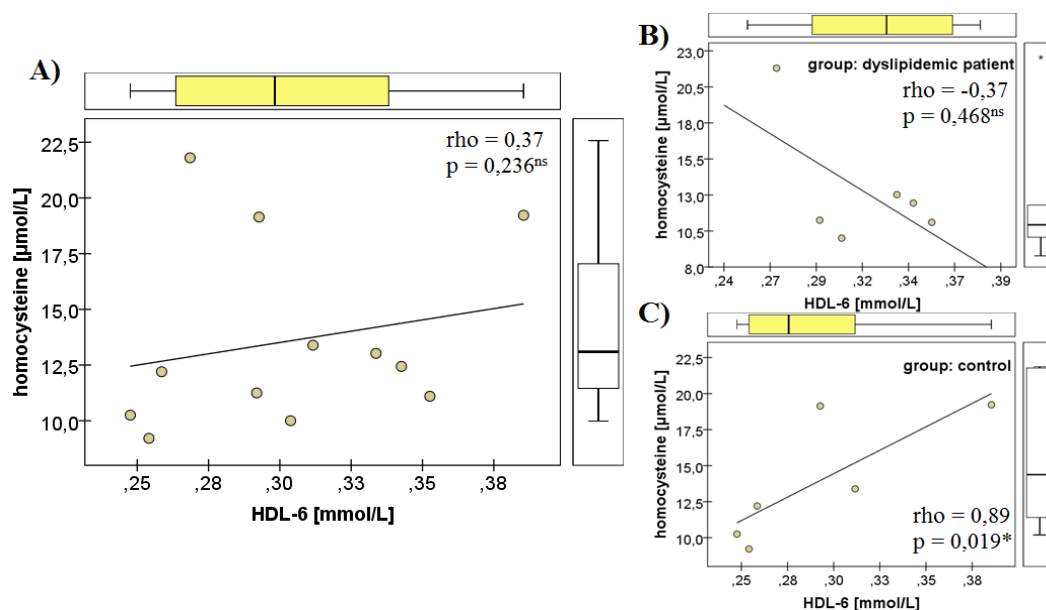
**Table 2 Cholesterol distribution in lipoprotein particles in study participants**

Cholesterol in lipoprotein subfractions [mmol/L]	Dyslipidemic patients n = 6	Control group n = 6
VLDL recommended value: $\leq 0,57$ mmol/L	$1.63 \pm 0.20$	$1.44 \pm 0.18$
IDL A, B, C recommended value: $\leq 1,63$ mmol/L	$1.27 \pm 0.51$	$0.94 \pm 0.43$
LDL 1 (large, less atherogenic fraction) recommended value: $\leq 1,47$ mmol/L	$1.12 \pm 0.36$	$0.52 \pm 0.15$ $p = 0.028^*$
LDL 2 (intermediate, atherogenic fraction) recommended value: $\leq 0,78$ mmol/L	$0.41 \pm 0.26$	$0.23 \pm 0.34$
LDL 3 to 7 (small, atherogenic fractions) recommended value: $\leq 0,16$ mmol/L	$0.03 \pm 0.08$	$0.03 \pm 0.06$
HDL 1, 2, 3 (large antiatherogenic fractions)	$0.36 \pm 0.17$	$0.38 \pm 0.23$
HDL 4 to 7 (intermediate fractions)	$0.72 \pm 0.07$	$0.67 \pm 0.13$
HDL 8, 9, 10 (small, atherogenic fractions)	$0.40 \pm 0.20$	$0.26 \pm 0.06$

Pearsonova korelačná analýza nepreukázala štatisticky významný vzťah medzi hladinou homocysteínu a hladinami celkového cholesterolu, triacylglycerolov, LDL-C a HDL-C. Dokonca sme nezaznamenali očakávaný pozitívny vzťah medzi homocysteínom a celkovým cholesterolom ani LDL-C. Cholesterol v subfrakciách sa zdá byť citlivejším faktorom. Medzi cholesterolom v aterogénnych frakciách – VLDL, IDL A, B, C a LDL 3 – a homocysteínom sme preukázali pozitívnu koreláciu.

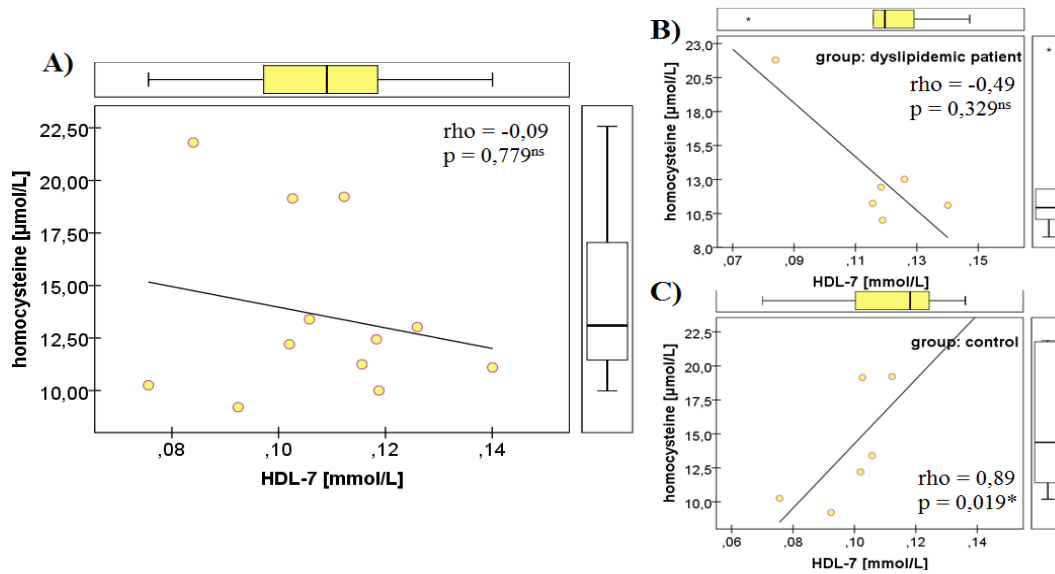
Zvýšené hladiny cholesterolu v menej aterogénnych a protiaterogénnych frakciách - LDL 1 a 2, HDL 2 a 3 korelovali s poklesom hladiny homocysteínu. Štatisticky významné korelácie sme zaznamenali medzi homocysteínom a cholesterolom v aterogénnych subfrakciách HDL 6 a 7 u zdravých jedincov (Spearmanov korelačný koeficient 0,89,  $p = 0,019$  v oboch prípadoch, Obr.3, Obr. 4). U dyslipidemikov sme preukázali štatisticky významný súvis medzi homocysteínom a neaterogénnymi frakciami HDL 1 (Spearmanov korelačný koeficient 0,89,  $p = 0,019$ , Obr. 5).

**Figure 3 Regression plot for homocysteine level and cholesterol in fraction HDL 6**



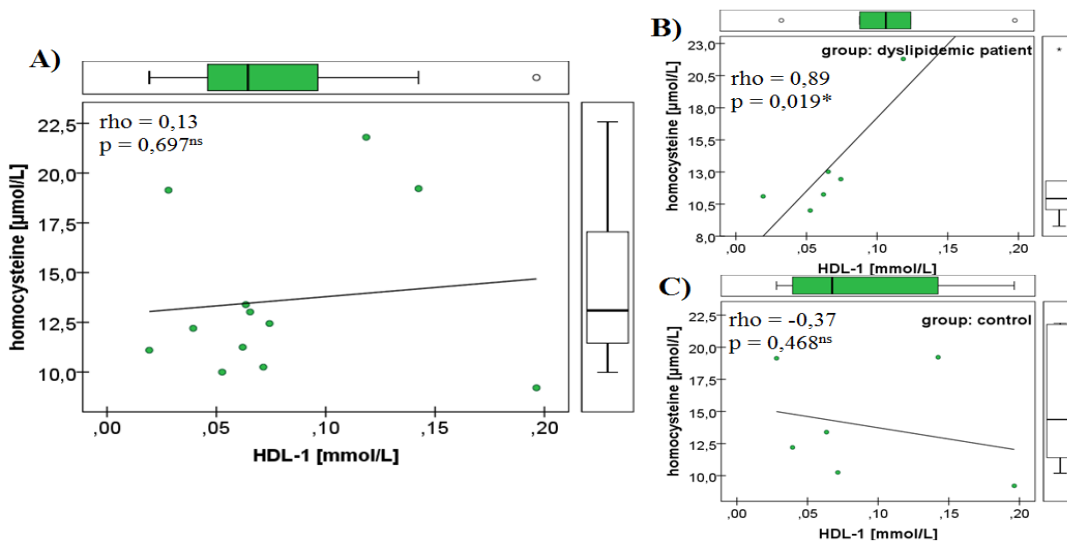
A) in study participants, B) in dyslipidemic patients, and C) in non-dyslipidemic control individuals.

**Figure 4** Regression plot for homocysteine level and cholesterol in fraction HDL 7



A) in study participants, B) in dyslipidemic patients, and C) in non-dyslipidemic control individuals.

**Figure 5** Regression plot for homocysteine level and cholesterol in fraction HDL 1



A) in study participants, B) in dyslipidemic patients, and C) in non-dyslipidemic control individuals.

Analýza LDL subfrakcií a ich vzťah s homocysteínom v jednotlivých skupinách bola nekonzistentná. Negatívna korelácia bola zaznamenaná medzi všetkými subfrakciami LDL a homocysteínom v kontrolnej skupine. Naopak, pozitívna korelácia sa potvrdila medzi homocysteínom a frakciami LDL 2 a 3 u dyslipidemických pacientov. Tieto korelácie neboli štatisticky významné.

### Diskusia

Hyperhomocysteinémia je spojená s rizikom vzniku a rozvoja kardiovaskulárnych ochorení [4, 9]. U jedincov s diagnostikovanou dyslipidémiou sme očakávali zvýšené hladiny homocysteínu, tie sme však zaznamenali len u jedného pacienta s dyslipidémiou a až u dvoch normolipidemikov. Momin a kol. poukazujú na významnú koreláciu medzi hyperhomocysteinémiou a hypertriacylglycerolémiou a zníženými hladinami HDL-C [6]. Negatívna korelácia medzi HDL-C a homocysteínom sa u našich probandov nepreukázala a pozitívna korelácia s triacyl-

glycerolmi bola štatisticky nevýznamná. Traja probandi s hyperhomocysteinémiou vykazovali fyziologické hladiny HDL-C aj triacylglycerolov. Práve z tohto dôvodu by sme chceli poukázať na dôležitosť vyhodnotenia nie len kvantity, ale aj kvality lipoproteínov. Je zásadný rozdiel medzi hodnotou cholesterolu v lipoproteínových časticiach a počtom lipoproteínových častíc [10]. Veľkosť častice môže prispievať k - ako aj pôsobiť proti - aterogenite [1, 7, 3].

Cieľom tejto práce bolo poukázať na vzťah medzi homocysteínom a cholesterolom v subfrakciách lipoproteínov, čím sa získal jasnejší obraz o kvalite lipoproteínov. Rozdielne regresné trendy medzi homocysteínom a frakciami HDL 1, 4, 6 a 7 u pacientov s dyslipidémiou a kontrolnou skupinou naznačujú modifikáciu týchto častíc počas abnormálneho metabolizmu lipidov pozorovanom u dyslipidemických pacientov.

Preukázali sme výraznejší súvis medzi subfrakciami lipoproteínov a homocysteínom, než medzi celkovým cholesterolom a homocysteínom. Medzi cholesterolom v aterogénnych frakciách a homocysteínom sme preukázali pozitívnu koreláciu. Vysoké hladiny cholesterolu v protiaterogénnych frakciách korelovali s poklesom hladiny homocysteínu. Štatisticky signifikantne korelácie sme zaznamenali medzi homocysteínom a cholesterolom v aterogénnych subfrakciách HDL 6 a 7 u zdravých jedincov. U dyslipidemikov sme preukázali štatisticky signifikantný súvis medzi homocysteínom a neaterogénnymi frakciami HDL 1.

Rozdielne trendy regresie medzi homocysteínom a cholesterolom v subfrakciách lipoproteínov pozorované u dys- a normolipidemikov naznačujú modifikáciu lipoproteínov počas abnormálnej metabolizácie lipidov.

#### Záver

Prvé výsledky tohto projektu naznačujú význam stanovenia cholesterolu v subfrakciách lipoproteínov vo vzťahu k homocysteínu. Naše výsledky majú za cieľ napomáhať pri správnom stanovení diagnózy a pri personalizovanej liečbe dyslipidémie.

#### Literatúra

1. Bakillah, A., Zaiou, M.: The "forgotten" modified lipoprotein subspecies, *Front Biosci*, (Landmark Ed), 23, 2018, (3):458-63. doi: 10.2741/4599.
2. Conwell, D.L., Banks, P., Greenberger, N.J.: Acute and chronic pancreatitis. In Kasper, D. L. et al. (eds) *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 19th edn. New York: McGraw-Hill Education / Medical, 2015, 2435-449.

#### DYSLIPIDEMIA AND CARDIOVASCULAR RISK

Hubková B., Carbonell Capó C., Birková A., Čížmarová B., Onáčillová E., Vaňová N., Vargová V.

**Aim** The aim of this work was to investigate the relation between atherogeneity expressed by cholesterol in the lipoprotein subfractions and homocysteine, which is an inflammatory marker of cardiovascular diseases.

**Materials and methods** The relation between cholesterol in lipoprotein subfractions and homocysteine was investigated in patients with dyslipidemia who were expected to have elevated homocysteine levels and an increased proportion of atherogenic fractions of both high and low density lipoproteins. Measurements were also performed on probands without dyslipidemia. Cholesterol subfractionation was performed by the Lipoprint® Lipoprotein Subfractions Testing System.

**Results** We have shown a stronger relation between the subfraction of lipoproteins and homocysteine than between total cholesterol and homocysteine. We found positive correlation between cholesterol in the atherogenic fractions - VLDL, IDL A, B, C and LDL 3 - and homocysteine. The increase in less atherogenic and non-atherogenic fractions - LDL 1 and 2, HDL 2 and 3 correlated with a decrease in homocysteine levels. Statistically significant correlations were found between homocysteine and cholesterol in atherogenic fractions HDL 6 and 7 in healthy subjects (Spearman's rho 0.89,  $p = 0.019$ , for both). In dyslipidemic patients we demonstrated a statistically significant association between homocysteine and non-atherogenic HDL 1 fractions (Spearman's rho 0.89,  $p = 0.019$ ).

**Conclusion** Different regression trends observed in dyslipidemic and normolipidemic patients suggest modification of lipoproteins during abnormal lipid metabolism in dyslipidemia.

**Key words:** cholesterol, lipoprotein subfraction, homocysteine, dyslipidemia, atherosclerosis

Práca vznikla pri riešení projektu VEGA 1/0910/16.

Autori deklarujú, že nemajú potenciálny konflikt záujmov.

Korešpondujúci autor:

Doc. MUDr. Viola Vargová, PhD.

I. interná klinika UPJŠ LF

Trieda SNP 1, Košice

E-mail: viola.vargova@upjs.sk

3. Hubková, B. et al.: Lipoprotein-cholesterol fractions in marginalized Roma versus majority population. *Int J Environ Res Public Health*. 2018, doi: 10.3390/ijerph15010081.
4. Chrysant, S.G., Chrysant, G.S.: The current status of homocysteine as a risk factor for cardiovascular disease: a mini review. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2018, doi: 10.1080/14779072.2018.1497974.
5. Kollár, J., Kuchta, M.: Metabolizmus lipidov a lipoproteínov u chorých na celiakiu. *Ateroskleróza*. XXII. 2018, (1-2):1155-159.
6. Momin, M. et al.: Relationship between plasma homocysteine level and lipid profiles in a community-based Chinese population. *Lipids Health Dis*. 2017, doi: 10.1186/s12944-017-0441-6.
7. Muchová, J. et al.: High density lipoprotein subfractions and paraoxonase 1 in children. *Acta Biochim Pol*. 2016, doi:10.18388/abp.2015\_1230.
8. Rosipal, Š., Kuchta, M., Rosipal, R.: Congenital analbuminemia as a cause of secondary dyslipidemia. *Ateroskleróza*. XXII, 2018, (1-2):1129-131.
9. Veeranki, S., Gandhapudi, S.K., Tyagi, S.C. Interactions of hyperhomocysteinemia and T cell immunity in causation of hypertension. *Can J Physiol Pharmacol*. 2017, doi: 10.1139/cjpp-2015-0568.
10. Zalejska-Fiolka, J. et al.: Monitoring účinnosti terapie obezity využitím analýzy lipoproteínov systémom Lipoprint. *Laboratórna Diagnostika*. XXII, 2017, (1):12-6.