



**Univerzita Karlova v Praze**

**1.lékařská fakulta**

Autoreferát disertační práce

**Regrese koronární aterosklerózy při  
hypolipidemické terapii**

**MUDr. Tomáš Kovárník**

II. interní klinika kardiologie a angiologie,

Všeobecná fakultní nemocnice v Praze

Praha 2011

## **Doktorské studijní programy v biomedicíně**

*Univerzita Karlova v Praze  
a Akademie věd České republiky*

Obor: Fyziologie a patofyziologie člověka

Předseda oborové rady: prof. MUDr. Jaroslav Pokorný,  
DrSc.

Školící pracoviště: II. interní klinika kardiologie  
a angiologie Všeobecné fakultní nemocnice v Praze

Autor: MUDr. Tomáš Kovárník

Školitel: prof. MUDr. Michael Aschermann, DrSc.

Oponenti:

prof. MUDr. Josef Veselka, DrSc.  
MUDr. Michael Želízko, CSc.

Autoreferát byl rozeslán dne: .....

Obhajoba se koná dne: ..... v ..... hod.  
kde .....  
.....

S disertací je možno se seznámit na děkanátě  
..... fakulty Univerzity Karlovy v Praze

## Obsah

1.	ABSTRAKT .....	4
2.	ABSTRACT .....	5
3.	ÚVOD .....	6
4.	Cíle studie.....	6
4.1.	Primární cíl .....	6
4.2.	Sekundární cíle .....	6
5.	HYPOTÉZY .....	7
6.	METODIKA.....	7
6.1.	Intravaskulární ultrazvuk.....	7
6.2.	Virtuální histologie .....	8
6.3.	Laboratorní vyšetření.....	8
6.4.	Analýza polymorfismů v genu pro ENOS.....	8
6.5.	Analýza polymorfismů v genu pro HO-1 .....	8
7.	VÝSLEDKY.....	9
7.1.	Pacienti .....	9
7.2.	Laboratorní výsledky .....	9
7.3.	Dosažení cílových hodnot .....	10
7.4.	IVUS hodnocení .....	10
7.6.	Hodnocení napětí cévní stěny.....	12
7.7.	Genetická analýza ENOS polymorfismu.....	12
7.8.	Genetická analýza HO-1 polymorfismů .....	12
7.9.	Vedlejší efekty agresivní hypolipidemické terapie.....	13
8.	DISKUZE.....	13
8.1.	Progrese a regrese aterosklerózy .....	14
8.2.	Změny ve složení plátů.....	15
8.3.	Změny prozánětlivých markerů.....	16
8.4.	Polymorfismus v genu pro HO-1.....	16
8.5.	Polymorfismus v genu pro ENOS .....	16
8.6.	Bezpečnost agresivní hypolipidemická terapie.....	17
9.	ZÁVĚR.....	17
10.	LITERATURA.....	18
11.	SEZNAM PUBLIKACÍ .....	20
	Publikace s IF in extenso, které jsou podkladem disertace.....	20

## 1. ABSTRAKT

**Úvod:** Dosud nebyla publikována práce hodnotící změny koronární aterosklerózy při léčbě ve složení atorvastatin a ezetimib.

**Metodika:** zařazeno bylo 107 nemocných se stabilní anginou pectoris, finální analýza byla provedena u 89 nemocných. Pacienti byli randomizováni 1:1 k léčbě atorvastatin 80mg a ezetimib 10 mg (skupina A) a ke standardní léčbě, (skupina S). Délka léčby byla rok.

**Výsledky:** změna procentuálního objemu plátu (PAV) byla ve skupině A - 0,4% a ve skupině S +1,4%,  $p=0,014$ . Kombinované regrese definované jako zmenšení PAV a zvětšením objemu lumen byla častější ve skupině A (40,5%) než ve skupině S(14,9% ),  $p=0,007$ . Doporučovaná cílová hodnota LDL cholesterolu  $< 2$  mmol/l, přítomnost čtyř z pěti sledovaných rizikových faktorů pro aterosklerózu a pokles hladiny VCAM byly nezávislé faktory predikující zmenšení plátu. Během studie nedošlo k významným změnám ve složení plátů při srovnání obou skupin. Při hodnocení obou skupin společně bylo patrné zmenšení zastoupení fibrózní a fibrolipidové složky plátů provázené zvýšením množství nekrotické tkáně a kalcifikací. Rozdíly mezi jednotlivými skupinami nebyly významné.

**Závěr:** duální hypolipidemická léčba vede k regresi aterosklerózy, ale přes významný pokles hladin lipidů nevede k ovlivnění změn ve složení plátů.

**Klíčová slova:** Intravaskulární ultrazvuk, ateroskleróza, regrese, statiny

## 2. ABSTRACT

**Background:** There is no study focusing on changes of coronary atherosclerosis during dual hypolipidemic therapy with statin and ezetimibe.

**Methods:** 107 patients with stable angina were enrolled and the final analysis was performed in 89 patients. Randomization was 1:1 to the group A (atorvastatin 80mg and ezetimibe 10mg) and to the standard group S. Treatment period was 12 months.

**Results:** Changes of percent atheroma volume (PAV) were -0,4% in group A and + 1,4% in group S,  $p=0,014$ . Combine atherosclerosis regression (increase of lumen volume together with decrease of PAV) was found more frequent in group A (40,5%) than the group S (14,9%),  $p=0,007$ . The target LDLc level  $< 2\text{mmol/l}$ , presence of at least four of five atherosclerotic risk factors, and decrease of VCAM level were independent predictors for plaque regression. There were no significant differences in plaque composition between the two groups over the duration of the study. However during analysis the two groups together, fibrous and fibro-fatty tissues decreased and dense calcification and necrotic core increased during follow-up.

**Conclusion:** The dual hypolipidemic therapy starts atherosclerosis regression. Despite significant decrease of lipid levels the continuous plaque shift from fibro and fibro-fatty to necrotic with calcification was still present in both groups.

**Key words:** intravascular ultrasound, atherosclerosis, regression, statins

### **3. ÚVOD**

Řada klinických studií s pacienty léčenými statiny prokázala snížení mortality a snížení výskytu kardiovaskulárních příhod. Důvody tohoto příznivého ovlivnění klinických důsledků aterosklerózy však nejsou dosud plně vysvětleny. Zjištěné změny velikosti aterosklerotických plátů jsou malé a údajů o změně složení aterosklerotických plátů je jen velmi málo. Nasu et al.<sup>1</sup> demonstrovali regresi aterosklerotických plátů se signifikantní redukcí fibrolipidové tkáně, na druhou stranu ve studii IBIS-2<sup>2</sup> byla popsána progresse nekrotické tkáně a reciproční pokles fibrózní a fibrolipidové tkáně.

Předkládaná studie hodnotí změny objemu, složení a mechanických vlastností aterosklerotických plátů pomocí intravaskulární ultrazvuku (IVUS), virtuální histologie (VH) hodnocení napětí v plátu (WSS) při duální hypolipidemické léčbě v podobě atorvastatin 80 mg a inhibitor absorpce cholesterolu ezetimib 10 mg. Vedle hodnocení koronární aterosklerózy je ve studii sledován vliv této léčby na hladiny lipidů a prozánětlivých markerů. Dále je ve studii sledován vliv polymorfismů v genech pro endoteliální NO syntázu (ENOS) a hemoxygenázu 1 (HO-1). Jedná se o geny, které hrají významnou roli v aterogenezi.

### **4. Cíle studie**

#### **4.1. Primární cíl**

Prokázat změny ve složení aterosklerotických plátů během agresivní hypolipidemické terapie.

#### **4.2. Sekundární cíle**

- 1) změna objemu aterosklerotických plátů
- 2) změnu objemu lumen v plátech
- 3) změny známek zánětu a endoteliální dysfunkce

- 4) analýza vlivu polymorfismus v genech pro ENOS a HO-1 na vývoj aterosklerotických plátů a jejich rizikového profilu
- 5) vztah mezi změnami velikosti / složení aterosklerotických plátů a velikostí napětí cévní stěny.

## 5. HYPOTÉZY

- a) Duální hypolipidemická léčba povede k zastavení nepříznivého vývoje ve složení aterosklerotických plátů.
- b) Duální hypolipidemická léčba povede ke zmenšení objemu aterosklerotických plátů a kombinované regresi (zmenšení objemu plátů v kombinaci se zvětšením objemu lumen).
- c) Agresivní duální hypolipidemická léčba povede ke snížení hladin prozánětlivých markerů.
- d) Polymorfismy v ENOS a HO-1 genech budou mít vztah k tíži aterosklerotického poškození a k rizikosti složení plátů a jeho změn v průběhu terapie.
- e) Agresivní duální hypolipidemická léčba povede ke změnám ve složení napětí v plátu.
- f) Agresivní duální hypolipidemická léčba nebude zvyšovat výskyt nežádoucích účinků, a to zejména myopatie a jaterní toxicity.

## 6. METODIKA

### 6.1. Intravaskulární ultrazvuk

IVUS umožňuje zobrazení lumen tepny i cévní stěny. K vyšetření se používá ultrazvuková sonda s frekvencí 20 MHz. U každého nemocného byla vyšetřena jedna nativní koronární artérie. Hodnocený segment obsahoval alespoň 40% stenózu při angiografickém hodnocení. V souladu s dříve publikovanými studii<sup>3,4</sup> byla provedena tato měření:

1/ Procentuální objem plátu (PAV):  $[\Sigma(\text{EEM}_{\text{CSA}} - \text{Lumen}_{\text{CSA}}) / \Sigma \text{EEM}_{\text{CSA}}] \times 100$ .

2/ Indexovaný objem plátu (TAV<sub>i</sub>):  $\Sigma(\text{EEM}_{\text{CSA}} - \text{Lumen}_{\text{CSA}}) /$   
délka plátu.

3/ Objem lumen (LV):  $\Sigma \text{Lumen}_{\text{CSA}}$ .

4/ Objem tepny (VV):  $\Sigma \text{EEM}_{\text{CSA}}$ .

$\text{EEM}_{\text{CSA}}$  = plocha tepny (v oblasti lamina elastica externa),  $\text{Lumen}_{\text{CSA}}$  = plocha lumen. Změny objemů plátu byly hodnoceny jako rozdíl  $\text{PAV}_{\text{kontrolní}} - \text{PAV}_{\text{vstupní}}$  a  $\text{TAV}_{i\text{kontrolní}} - \text{TAV}_{i\text{vstupní}}$ .

## 6.2. Virtuální histologie

Principem je analýza frekvencí odraženého signálu, které odpovídají tkáni odrážející ultrazvukový signál. Je možno odlišit fibrotickou tkáň, fibro-lipidová, nekrotická a kalcifikace. Sensitivita a specificita hodnocení je přes 90%<sup>5</sup>. VH byla provedena ve stejném segmentu tepny jako IVUS měření a bylo hodnoceno relativní i absolutní složení vyšetřovaného plátu.

## 6.3. Laboratorní vyšetření

Během vstupního vyšetření, ambulantních kontrol (3,6,9 měsíců po randomizaci) a kontrolní hospitalizace po 12 měsících byla provedena rutinní biochemické hodnocení: lipidogram, celková kreatinkináza (CK), aminotransferázy (ALT, AST). Dále byly během vstupní a kontrolní hospitalizace vyšetřeny adhezivní molekuly (ICAM, VCAM) a markery zánětu (hs CRP, IL-6, CD40 L, TNF alfa).

## 6.4. Analýza polymorfismů v genu pro ENOS

DNA byla izolována z leukocytů periferní krve. Pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR) byl amplifikován exon 7 genu pro ENOS. GG (Glu/Glu) varianta byla hodnocena jako protektivní, zatímco varianty GT (Glu/Asp) a TT (Asp/Asp) jako rizikové<sup>6</sup>.

## 6.5. Analýza polymorfismů v genu pro HO-1

DNA byla izolována z leukocytů periferní krve. Pomocí PCR byla amplifikována oblast promotoru genu HO-1, která obsahuje



dinukleotidové motivy guanosin, thymidin (GT). Alely byly rozděleny podle počtu GT opakování na krátké (S) s méně než 25 opakování GT motivu a dlouhé (L) s více než 25 opakováními<sup>7</sup>. Homozygoti SS a heterozygoti SL byly považovány za protektivní variantu zatímco homozygoti LL za rizikovou<sup>8</sup>.

## 7. VÝSLEDKY

### 7.1. Pacienti

Do studie bylo zařazeno 107 pacientů. Kompletní analýza dat byla provedena u 89 nemocných. Genetická analýza byla provedena u 71 nemocných. Více než polovina nemocných (55 t.j. 61,8%) užívala statiny již před vstupem do studie.

### 7.2. Laboratorní výsledky

Změny hladin lipidů jsou shrnuty v Tabulce 1. V obou skupinách významně poklesla hladina TNF-alfa a nevýznamně se zvýšila hodnota hsCRP, ale konečná hladina hsCRP byla ve skupině S signifikantně vyšší než ve skupině A (7,4±5,3 vs. 5,1±4,6, p=0,048).

*Tabulka 1. Změny hladin lipidů*

Změny hodnot v %	Agresivní	Standardní	p
<b>Cholesterol</b>	-27,4 ±24.7%	-8.0±23.9%	0.0003
<b>LDLc</b>	-28,6±33.8%	-1.9±29.8%	0.0002
<b>HDLc</b>	4,5±40.5%	- 1.3±20.1%	0.39
<b>TAG</b>	-28,6±33.8%	1.9±29.8%	0.0002
<b>Apolipoprotein A1</b>	28,0±30.9%	22.3±35.9%	0.49
<b>Apolipoprotein B100</b>	-5,8±32.9%	7.4±22.1%	0.06
<b>LDLc-HDLc mmol/l</b>	-51,0±95.2%	4.4±28.3%	0.0012
<b>Non HDLc mmol/l</b>	-32,3±47.0%	-9.2±31.6%	0.0074

### 7.3. Dosažení cílových hodnot

Testovali jsme vliv dosažení doporučených hodnot lipidů a hs CRP na vývoj aterosklerózy. Jednalo se o LDL 2,6 mmol/l a 2 mmol/l, hsCRP 2mg/l. Všechny parametry byly dosaženy významně častěji ve skupině A. Jejich dosažení mělo vliv na změnu PAV, ovšem rozdíly nebyly významné.

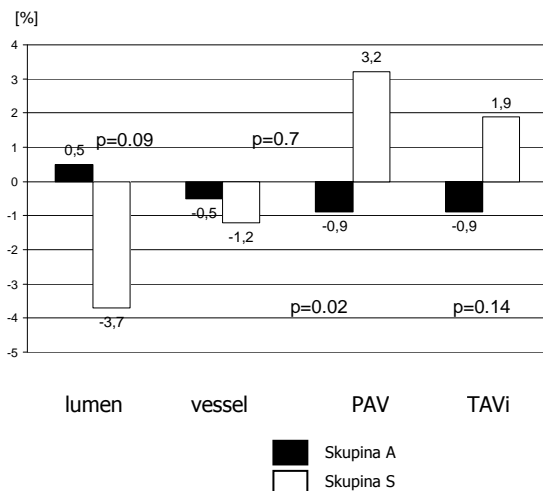
### 7.4. IVUS hodnocení

Průměrná délka plátů byla v obou skupinách velmi podobná při vstupním 45,7±20,9 mm (skupina A) a 48,4±10,9 mm (skupina S),  $p=0,49$ . Ve skupině A došlo ke zmenšení PAV (-0,4%) na rozdíl od zvětšení ve skupině S (+1,4%),  $P=0,014$ . Hodnotili jsme rovněž relativní změny jednotlivých parametrů (Graf 1). Kombinovaná regrese aterosklerózy byla nalezena významně častěji ve skupině A, 17 pacientů (40,5%) než ve skupině S 7 pacientů (14,9%),  $p=0,007$ . Pokles PAV byl patrný od zmenšení LDL o 34%, dosažení hladiny HDL cholesterolu 1,28 mmol/l a rozdílu mezi LDL a HDL cholesterolem 0,75 mmol/l. Pacienti se snížením PAV měli vyšší hladinu HDL cholesterolu při kontrolním vyšetření (1.27±0.4 mmol/l vs. 1.1±0.2 mmol/l,  $p=0.02$ ) a menší rozdíl mezi LDL a HDL cholesterolem při kontrolním vyšetření (0.8±0.9 mmol/l vs. 1.24±0.86 mmol/l,  $p=0.037$ )

Nalezli jsme pozitivní korelace mezi vstupní hladinou VCAM a vzestupem PAV ( $p=0,02$ ,  $r=0,28$ ), vzestupem VCAM a zvětšením absolutního objemu plátu ( $p=0,02$ ,  $r=0,27$ ) a negativní korelaci mezi vstupní hladinou VCAM a změnou objemu lumen ( $p=0,025$ ,  $r=-0,26$ ).

Hladina LDL cholesterolu menší než 2 mmol/l, přítomnost jakýchkoliv čtyř z pěti sledovaných rizikových faktorů aterosklerózy (rodinná anamnéza, stav po infarktu myokardu, diabetes mellitus, hyperlipoproteinemie, kouření) a pokles hladiny VCAM během studie byly nezávislými prediktory výskytu regrese aterosklerózy.

Graf 1. Relativní změny objemů při IVUS hodnocení



### 7.5. Změny ve složení plátů

Hodnocení obou skupin pacientů současně je uvedeno v Tabulce 2. Při hodnocení rozdílů ve složení plátů mezi skupinami A a S jsme nenalezli významné rozdíly.

Tabulka 2. Absolutní i relativní složení plátů v obou skupinách

Typ plátu	Vstupní vyšetření	Kontrolní vyšetření	p
Fibrózní [mm <sup>3</sup> ]	131,8 ± 91,4	123,4 ± 84,4	0,58
Fibro-lipidový [mm <sup>3</sup> ]	50,0 ± 44,3	40,4 ± 32,4	0,15
Nekrotická tkáň [mm <sup>3</sup> ]	28,1 ± 24,8	35,9 ± 30,4	0,10
Kalcifikace [mm <sup>3</sup> ]	18,3 ± 28,0	22,9 ± 24,4	0,30
Fibrózní [%]	56,6±9,0	55,7±8,4	0,56
Fibro-lipidový [%]	21,5±9,3	18,4±9,8	0,05
Nekrotická tkáň [%]	13,2±8,2	16,1±7,4	0,034
Kalcifikace [%]	7,7±6,1	10,0±6,4	0,036

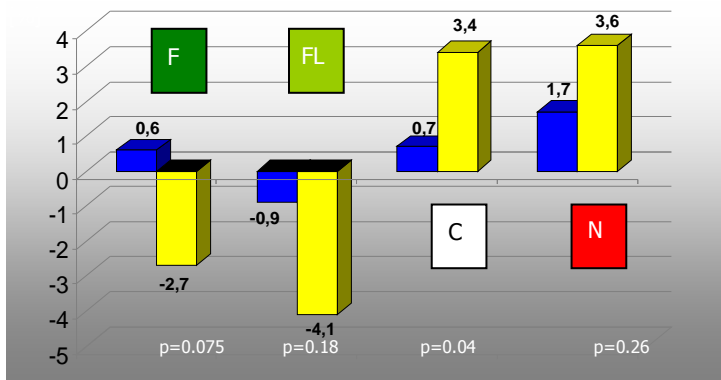
## 7.6. Hodnocení napětí cévní stěny

Software na analýzu WSS není dosud plně funkční a umožňuje zatím pouze ukázky analýzy WSS a nikoliv analýzu všech zařazených nemocných. Z tohoto důvodu zatím nelze provést hodnocení změn WSS a vztahu WSS k ostatním měřeným veličinám.

## 7.7. Genetická analýza ENOS polymorfismu

Protektivní alela Glu/Glu byla nalezena u 19 (55,9%) pacientů ve skupině A a ve skupině S u 16 (39%) pacientů,  $p=0,14$ . Nalezli jsme zajímavé vztahy mezi změnou složení plátu a typu polymorfismů v genu pro ENOS (Graf 2).

*Graf 2. Změny ve složení plátů v závislosti na typu polymorfismu v genu pro ENOS (modrý sloupec: protektivní polymorfismus, žlutý sloupec: rizikový polymorfismus).*

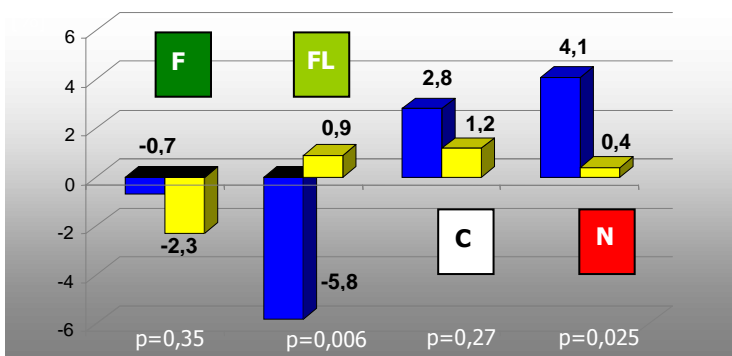


## 7.8. Genetická analýza HO-1 polymorfismů

Rizikový typ polymorfismu v genu pro HO-1 byl nalezen u 14 nemocných (43,8%) ve skupině A, ve skupině S u 15 nemocných (38,5%),  $p=0,65$ . Rizikový typ polymorfismu byl spojen s častějším výskytem diabetu mellitu (44,8% pacientů z rizikovým typem vs. 14,3% ve skupině nemocných s protektivním typem

polymorfismu),  $p=0,004$ . U nemocných s rizikový typem polymorfismu byl při vstupu do studie nalezen větší PAV než u pacientů s protektivním polymorfismem ( $49,1\pm 6,6$  vs.  $44,9\% \pm 5,5$ ),  $p=0,005$  a rovněž TAVi: ( $9,8 \pm 4,1$ ,  $8,02 \pm 2,6$ ),  $p=0,028$ . Změny ve složení aterosklerotických plátů u jednotlivých typů polymorfismu jsou zobrazeny v Grafu 3.

*Graf 3. Změny ve složení aterosklerotických plátů v závislosti na typu polymorfismu v genu pro HO-1 (modrý sloupec: protektivní polymorfismus, žlutý sloupec: rizikový polymorfismus)*



### 7.9 Vedlejší efekty agresivní hypolipidemické terapie

Desetkrát zvýšenou hladinu CK jsme zachytili u jednoho pacienta (2,4%) a trojnásobný vzestup ALT rovněž u jednoho pacienta. V obou případech se jednalo o asymptomatický laboratorní nález.

## 8. DISKUZE

Výše uvedené výsledky přinášejí následující odpovědi na původní hypotézy.:

- a) Agresivní duální hypolipidemická léčba nevede k zastavení nepříznivého vývoje ve složení aterosklerotických plátů.

- b) Agresivní duální hypolipidemická léčba vede ke zmenšení objemu aterosklerotických plátů a častějšímu výskytu kombinované regrese.
- c) Agresivní duální hypolipidemická léčba nevede, až na TNF alfa, ke snížení hladin prozánětlivých markerů.
- d) Polymorfismus v genu pro HO-1 koreluje s tíží koronárního postižení, ale jeho protektivní varianta je paradoxně spojena se zvýšením množství nekrotické tkáně v plátech. Polymorfismus v genu pro ENOS nekoreluje s tíží koronárního postižení a jeho protektivní varianta je spojena s menším nárůstem kalcifikací.
- e) Hodnocení vztahu mezi agresivní duální hypolipidemická léčba a napětím v plátu nebylo dosud dokončeno.
- f) Agresivní duální hypolipidemická léčba nezvyšuje výskyt nežádoucích účinků, a to zejména myopatie a jaterní toxicity.

### **8.1. Progrese a regrese aterosklerózy**

Změna PAV byla ve skupině A – 0,4%, což je v souladu se studiemi (ASTEROID<sup>3</sup> -0,98%, REVERSAL<sup>4</sup> + 0,6%, GAIN<sup>9</sup> + 0,2%, ESTABLISH<sup>10</sup> -3,0%). K vzestupu objemu lumen a poklesu objemu plátů došlo ve studii ESTABLISH<sup>10</sup>.

Hladina LDL cholesterolu <2 mmol/l, přítomnost čtyř z pěti rizikových faktorů (rodinná anamnéza, stav po infarktu myokardu, diabetes mellitus, hyperlipoproteinemie, kouření) a pokles hladiny VCAM byly nezávislými prediktory výskytu regrese aterosklerózy.

Přítomnost čtyř z pěti rizikových faktorů aterosklerózy jako prediktor regrese je dán větší šancí regrese u více rizikových nemocných s větším objemem plátů. Podobný výsledek byl zaznamenán ve studii REVERSAL<sup>4</sup>, kde u pacientů s metabolickým syndromem byl zaznamenán pokles objemu aterosklerotických plátů o 1,2% ve srovnání s nárůstem objemu plátů o 0,2% u nemocných bez metabolického syndromu.

Hladina LDL menší než 2 mmol/l je nyní doporučovaná cílová hodnota pro nemocné s potvrzenou ischemickou chorobou srdeční.

Pokles hladiny VCAM nebyl u lidí nikdy nalezen jako prediktor regrese aterosklerózy. V naší práci jsme našli korelace mezi VCAM a změnou objemu lumen koronárních tepen. Trogan et al.<sup>11</sup> popisují regresi transplantovaných aterosklerotických plátů v aortě od Apo E deficientních myší normolipidemickým myším kmene WT spolu se snížením hladin VCAM a MCP-1. Tato studie potvrzuje na experimentálním zvířecím modelu důležitou roli poklesu hladin VCAM v regresi aterosklerózy.

## **8.2. Změny ve složení plátů**

V obou skupinách došlo ke snížení fibrózní a fibrolipidové tkáně a zvýšení nekrotické tkáně a kalcifikací. Tyto nálezy jsou ve shodě se studií IBIS-2<sup>2</sup>, kde došlo ke snížení fibrózní a fibrolipidové tkáně a ke zvýšení nekrotické tkáně a kalcifikací. Nasu et al.<sup>1</sup> popisují při léčbě fluvastatinem snížení fibrolipidové i nekrotické tkáně a zvýšení fibrózní a kalcifikované složky. Je zde však několik podstatných rozdílů. Žádných z pacientů nebyl před vstupem do studie léčen statiny, zatímco v naší studii bylo neléčených pacientů 43,9% ve skupině A a 34% ve skupině S. Pacienti ve studii rovněž nebyli randomizováni, ale nemocní s LDL cholesterolem vyšším než 3,6 mmol/l byli léčeni fluvastatinem a pacienti s nižší hodnotou LDL cholesterolu byli léčeni jen dietou.

Podle našich výsledků a výsledků studie IBIS-2 nález hodnotíme jako přirozený průběh vývoje aterosklerotických lézí, kde dochází k přeměně fibrózní a fibrolipidové části plátu na nekrotickou kalcifikovanou tkáň. Definitivní závěry však pro diskrepanci nálezů různých studií nelze učinit a momentálně probíhá další velká studie na toto téma (SATURN), která může přinést další informace o vývoji složení aterosklerotických plátů při léčbě statiny.

### **8.3. Změny prozánětlivých markerů**

Kromě signifikantního snížení hladiny TNF-alfa v obou skupinách (rozdíl mezi skupinami nebyl významný) nedošlo v průběhu studie k významným změnám prozánětlivých markerů. Překvapivě došlo ke vzestupu hsCRP v obou skupinách (nesignifikantně více ve skupině S). Ve statinových studiích<sup>4,12</sup> došlo k poklesu hsCRP. Vysvětlením může být vysoký podíl kuřáků v obou skupinách (68,3% a 61,7%), neboť u kuřáků s koronární aterosklerózou dochází ke zvýšení hladin hsCRP<sup>13</sup>.

### **8.4. Polymorfismus v genu pro HO-1**

Nález vyššího rizikového profilu (častější diabetes mellitus, větší objem aterosklerotických plátů) nositelů rizikové formy polymorfismu koreluje s dříve publikovanými pracemi<sup>7</sup>. Naše pozorování, že rizikový polymorfismus je spojen s větší progresí nekrotické tkáně je neočekávané a dosud nepublikované. U rizikového typu polymorfismu je snížena exprese HO-1, což přispívá k většímu oxidativnímu stresu ve tkáni. Tento nepříznivý stav může být zlepšen právě statiny, které intenzitu zánětlivých změn v plátech snižují<sup>14</sup> a navíc zvyšují expresi HO-1<sup>15,16</sup>. U pacientů s protektivní variantou polymorfismu může docházet k progresi aterosklerózy ještě jiným mechanismem, který není ovlivnitelný statiny, což by mohlo vysvětlit nalezené nepříznivé změny ve složení aterosklerotických plátů v průběhu studie.

### **8.5. Polymorfismus v genu pro ENOS**

U pacientů, kteří jsou nositeli protektivní varianty (Glu/Glu) jsme našli významně menší tendenci ke kalcifikacím v aterosklerotických plátech. Podobné pozorování se nám nepodařilo nalézt v žádné literatuře publikované na toto téma. Je známo, že statiny stimulují expresi ENOS<sup>17</sup> a stimulují rovněž ENOS aktivitu v koronárních tepnách u prasečího modelu<sup>18</sup>. Můžeme spekulovat, že pozitivní efekt statinů na expresi a aktivitu ENOS je výraznější



u nositelů protektivní varianty polymorfismu a proto u těchto nemocných dochází k příznivějšímu ovlivnění aterogeneze než u nemocných s rizikovým typem polymorfismu v genu pro ENOS.

## **8.6. Bezpečnost agresivní hypolipidemická terapie**

Ve skupině A jsme našli pouze nesignifikantní zvýšení hodnot ALT. Signifikantní elevace CK a signifikantní elevace ALT byla vždy zjištěna pouze u jednoho pacienta ve skupině A.

## **9. ZÁVĚR**

Potvrdili jsme hypotézu, že agresivní hypolipidemická terapie vede ke zmenšení aterosklerotických plátů a indukuje vznik kombinované regrese. Nepotvrdili jsme, že tato léčba zastaví nepříznivé změny ve složení plátů, nadále pokračuje přechod fibrózních a fibrolipidových složek v nekrotickou tkáň s kalcifikacemi.

Agresivní kombinovaná léčba vedla ke snížení TNF-alfa v obou skupinách, u ostatních markerů nedošlo k významným změnám. Překvapivě došlo ke vzestupu hladiny hsCRP v obou skupinách, a to více ve skupině S (rozdíl však nebyl statisticky významný). U nositelů protektivního polymorfismu v genu pro HO-1 došlo ke zvýšení objemu nekrotické tkáně, což je překvapující nálezn. Spekulativně si jej vysvětlujeme odlišným mechanismem změn ve složení aterosklerotických plátů u nositelů protektivního a rizikového polymorfismu, které nejsou u nositelů protektivního polymorfismu ovlivnitelné statiny. Rizikový polymorfismus v genu pro ENOS byl spojen s vyšším nárůstem kalcifikací a tím i zvýšením rizikosti plátu. I v tomto případě se jedná o dosud nepublikovaný nálezn, který si zaslouží další zkoumání.

Agresivní kombinovaná hypolipidemická terapie nevedla během jednoho roku k významnému zvýšení výskytu nežádoucích účinků.

## 10. LITERATURA

- 1/ **Nasu K, Tsuchikane E, Katoh O, et al.** Effect of fluvastatin on progression of coronary atherosclerotic plaque evaluated by virtual histology intravascular ultrasound. *JACC Cardiovasc Interv* 2009;2:689-696
- 2/ **Serruys PW, Garcia-Garcia HM, Buszman P, et al.** Effects of the direct lipoprotein-associated phospholipase A<sub>2</sub> inhibitor darapladib on human coronary atherosclerosis plaque. *Circulation* 2008;118:1172-1182
- 3/ **Nissen SE, Nicholls SJ, Sipahi I, et al.** Effect of very high-intensity statin therapy on regression of coronary atherosclerosis: The ASTEROID trial. *JAMA* 2006;295:1556-1565
- 4/ **Nissen SE, Tuzcu EM, Shoenhagen P, et al.** REVERSAL Investigators. Effect of intensive compared with moderate lipid-lowering therapy on progression of coronary atherosclerosis: A randomized controlled trial. *JAMA* 2004;291:1071-1080
- 5/ **Nair A, Margolis P, Kuban B, Vince G.** Automated coronary plaque characterisation with intravascular ultrasound backscatter: ex vivo validation. *Eurointervention* 2007;3:113-120
- 6/ **Gardemann A, Lohre J, Cayci S, et al.** The T allele of the missense Glu(298)Asp endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism is associated with coronary heart disease in younger individuals with high atherosclerotic risk profile. *Atherosclerosis* 2002;160:167-175
- 7/ **Kaneda H, Ohno M, Taguchi J, Togo M et al.** Heme oxygenase-1 gene promoter polymorphism is associated with coronary artery disease in Japanese patients with coronary risk factors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002 1;22:1680-5
- 8/ **Morita T.** Hem oxygenase and atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2005;25:1786-1795
- 9/ **Schartl M, Bocksch W, Koschyk DH, et al.** Use of intravascular ultrasound to compare effect of different strategies of lipid-lowering therapy on plaque volume and composition in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2001;104:387-392
- 10/ **Okazaki S, Yokoyama T, Miyauchi K, Shimada K, Kurata T, Sato H.** Early statin treatment in patients with acute coronary syndrome: Demonstration of beneficial effect on atherosclerotic lesion by serial volumetric intravascular ultrasound analysis during

half a year after coronary event: The ESTABLISH study. *Circulation* 2004;110:1061-1068

11/ **Trogan E, Feig J, Dogan S, et al.** Gene expression changes in foam cells and the role of chemokine receptor CCR7 during atherosclerosis regression in ApoE-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103:3781-3786

12/ **Ridker P, Danielson E, Fonseca F, et al.** Rosuvastatin to prevent vascular event in men and women with elevated C-reactive protein. *NEJM*.2008;359:2195-2207

13/ **Jha HC, Divya A, Prasad J, Mittal A.** Plasma circulatory markers in male and female patients with coronary artery disease. *Heart and Lung* 2010;39:296-303

14/ **Blum A, Shamburek R.** The pleiotropic effects of statins on endothelial function, vascular inflammation, immunomodulation and thrombogenesis. *Atherosclerosis* 2009; 203:325-330

15/ **Lee TS, Chang CC, Zhu Y, Shyy JY.** Simvastatin induces heme oxygenase-1: a novel mechanism of vessel protection. *Circulation* 2004;110:1296 –1302

16/ **Chen JC, Huang KC, Lin WW.** HMG-CoA reductase inhibitors upregulate heme oxygenase-1 expression in murine RAW264.7 macrophages via ERK, p38 MAPK and protein kinase G pathways. *Cell Signal* 2006;18:32-39

17/ **Dulak J, Loboda A, Jazwa A, et al.** Atorvastatin affects several angiogenic mediators in human endothelial cells. *Endothelium* 2005;12:233-241

18/ **Mital S, Zhang X, Zhao G, et al.** Simvastatin upregulates coronary vascular endothelial nitric oxide production in conscious dogs. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000; 279:H2649-2657

## 11. SEZNAM PUBLIKACÍ

### Publikace s IF in extenso, které jsou podkladem disertace

- 1) **Kovarník T**, Skalická H, Horak J, Kral A, Mintz GS, Skulec R, Uhrova J, Martasek P, Sonka M, Wahle A, Downe R, Mrazek V, Aschermann M, Linhart A. Virtual histology evaluation of atherosclerosis regression during atorvastatin and ezetimibe administration - HEAVEN study. *Circulation Journal*, IF 3,225
- 2) **Kovárník T**, Král A, Skalická H, Skalická L, Dostál O, Králík L, Martásek P, Aschermann M, Linhart A. Prediction of coronary vessel involvement on the basis of atherosclerosis risk factor analysis, levels of proinflammatory cytokines, polymorphisms of genes regulating vascular tone and ultrasonographic examination of carotid arteries. *Bratislava Medical Journal*, 2011 přijato k publikaci, IF 0.317
- 3) Kral A, **Kovarník T**, Kralik L, Skalicka H, Horak J, Uhrova J, Sonka M, Wahle A, Downe R, Aschermann M, Marasek P, Linhart A. Genetic variants in heme oxygenase 1 and endothelial nitric oxide synthase influence the extent and evolution of coronary artery atherosclerosis. *Folia Biologica* 2011 přijato k publikaci , IF 1.14
- 4) Downe RW, Wahle A, Garvin JW, **Kovarník T**, Horak J, Lopez JJ, Sonka M. Identification and 3-D modeling of coronary branches in intravascular ultrasound. *Lecture Notes in Computer Science* 2011 přijato k publikaci, IF 0,25