

Zápal a genetika zápalovej odpovede pri kardiovaskulárnych chorobách

MÁRIA BUCOVÁ
Bratislava, Slovenská republika

BUCOVÁ M. Zápal a genetika zápalovej odpovede pri kardiovaskulárnych chorobách. *Cardiol* 2008;17(1):15–22

Zápal má dôležitú úlohu v etiopatogenéze ischemickej choroby srdca, infarktu myokardu, angíny pectoris a hypertenzie. Vyšetrenie sérových hladín C-reaktívneho proteínu a ďalších nešpecifických markerov zápalu má tak v diagnostike a monitorovaní kardiovaskulárnych chorôb svoje miesto. Otázkou je, čo vlastne tieto nešpecifické markery zápalu odrážajú. Tvorba C-reaktívneho proteínu je okrem génu pre C-reaktívny proteín regulovaná aj génmi pre IL-6 (interleukín), IL-1 beta a IL-1Ra, čo naznačuje, že prozápalové cytokíny a chemokíny môžu mať v patogenéze srdcových chorôb tiež dôležitú úlohu. Medzi najviac študované patria polymorfizmy génu pre MCP-1/CCL2 chemokín – molekulu, ktorá participuje na rozvoji aterosklerózy. Ukázalo sa, že viaceré gény na chromozóme 1 môžu ovplyvňovať expresiu týchto prozápalových faktorov a prispievať tak k rozvoju kardiovaskulárnych chorôb. Predpokladá sa, že tvorbu biomarkerov vaskulárneho zápalu ovplyvňujú okrem genetiky aj faktory prostredia, a že identifikácia génov ovplyvňujúcich ich syntézu zlepši chápanie genetického pozadia kardiovaskulárnych chorôb.

Kľúčové slová: zápal – C-reaktívny proteín – cytokíny – chemokíny – genetický polymorfizmus – ischemická choroba srdca

BUCOVA M. Inflammation and genetics of inflammatory response in cardiovascular diseases. *Cardiol* 2008;17(1):15–22

Inflammation plays a great role in the pathogenesis of ischemic heart disease, myocardial infarction, angina pectoris and hypertension. Determination of high sensitive C-reactive protein and other nonspecific inflammatory marker levels is used in diagnostic and monitoring of cardiovascular diseases. The question is, what really do these nonspecific markers reveal. The production of C-reactive protein is, except for the gene coding for C-reactive protein, also regulated by other genes – those coding for interleukin-6 (IL-6), IL-1 and IL-1Ra (IL-1 receptor antagonist). Proinflammatory cytokines and chemokines play also a great role in the pathogenesis of heart diseases. Polymorphisms of a chemokine, monocyte chemoattractant protein MCP-1, a molecule with a very important role in the development of atherosclerosis, the underlying cause of coronary artery disease, is among the most studied. It was found that several genes on chromosome 1 might influence the expression of proinflammatory factors and contribute to the development of cardiovascular diseases. One can suppose that the production of vascular inflammation biomarkers is genetically modulated. Thus, finding genes that influence their synthesis could result in better understanding of the genetic background of cardiovascular diseases.

Key words: C-reactive protein – Cytokines – Chemokines – Genetic polymorphism – Inflammation – Ischemic heart disease

Pod pojmom zápal si mnohokrát predstavujeme zmeny alebo poškodenie organizmu sprevádzané typickými prejavmi, ako calor, rubor, dolor, tumor a functio laesa. V takomto hrubom ponímaní sa zápal chápe ako niečo škodlivé, ako niečo, čo nám ubližuje. Zápal je však definovaný presne naopak. Je to súbor obranných reakcií, ktoré sa rozvíjajú ako odpoveď organizmu na vstup škodlivého agensu, vyvolanie infekcie, poškodenie buniek, tkanív alebo orgánov. Zameraný je na ohraňenie škodliviny a poškodeného tkaniva, na ich likvidáciu, vylúčenie a následnú reparáciu poškodeného tkaniva. Nie je to teda len reakcia na inzulť, ale najmä na poškodenie našich buniek, tkanív a orgánov. Teplo, začervenanie, opuch

a porucha funkcie sú len vedľajšie, prípadne nežiaduce účinky zápalu a v závislosti od charakteru zápalu, či už je lokálny alebo systémový, môžu ho sprevádzať aj celkové prejavy s rôznou intenzitou (1). Primárne má však každý zápal obranné poslanie.

Z uvedeného je jasné, že zápal nesprevádza len infekčné procesy, ale akékoľvek iné, pri ktorých dochádza k poškodeniu buniek, tkanív alebo orgánov (**tabuľka 1**). Zápal má dôležitú úlohu aj v etiopatogenéze ischemickej choroby srdca (ICHs), infarktu myokardu (IM), angíny pectoris (AP) a hypertenzie, avšak jeho mechanizmy v rôznych štádiách patologického procesu nie sú úplne preštudované (2 – 4).

Zápal a ateroskleróza

Proces aterogenézy a aterotrombózy je tiež sprevádzaný zápalom (5). Ateroskleróza sa dnes považuje za zápalové ochorenie a zápal aterosklerotického plaku za príčinu erózie intimy, jej ruptúry a následnej ischemie (4). Dokázala sa tu účasť rôznych buniek imunitného systé-

Z Imunologického ústavu Lekárskej fakulty UK v Bratislave, Slovenská republika

Do redakcie došlo dňa 28. novembra 2007; prijaté dňa 15. januára 2008

Adresa pre korešpondenciu: MUDr. Mária Bucová, CSc., Imunologický ústav, Lekárska fakulta UK, Sasinkova 4, 811 08 Bratislava, email: maria.bucova@fmed.uniba.sk, maria.bucova@gmail.com

Tabuľka 1 Zápal a jeho príčiny**Table 1** Inflammation and causes of inflammation

- | |
|--|
| 1. Infekčný – baktérie, plesne, vírusy, parazity
(Infectious – bacteria, fungi, viruses, parasites) |
| 2. Mechanický – odreniny, porezanie
(Mechanical – scratches, cuts) |
| 3. Fyzikálny a chemický – žiarenie, popálenie
(Physical and chemical – radiation, burn) |
| 4. Alergický
(Allergic) |
| 5. Autoimunitný
(Autoimmune) |
| 6. Ateroskleróza a kardiovaskulárne choroby
(Atherosclerosis and cardiovascular diseases) |
| 7. Nádory
(Tumours) |
| 8. Nutričné problémy
(Nutritional problems) |
| 9. Iné príčiny
(Other causes) |

mu, cytokínov, chemokínov a ďalších solubilných faktorov (6, 7).

Otázkou v tomto prípade je, či je zápal príčinou alebo len následkom ruptúry koronárneho plaku. Odpoveď je, že asi oboje. Už ukladanie lipidov (LDL – low density lipoproteins) je sprevádzané rozvojom zápalu – do cievnej steny vstupujú makrofágy a T-lymfocyty, vznikajú penové bunky, čo sú makrofágy, ktoré pohltili LDL častice. Makrofágy sa aktivujú, tvoria množstvo cytokínov a chemokínov, ktoré zápal podporujú, ale tiež MMP-9 (matrixovú metaloproteinázu), zmnožujú sa bunky hladkého svalstva ciev a dochádza k zhrubnutiu intimy. Neskôr sa v cievnej stene rozvíja fibróza a vznikajú kalcifikáty. Čím intenzívnejší je zápal, tým väčšia je aktivácia makrofágov a tým nestabilnejší je aterosklerotický plak – môže dôjsť k jeho ruptúre, čo spôsobí aktiváciu trombocytov, vznik trombu a následne rozvoj ischémie (4). Rozvoj zápalu v aterosklerotickom plaku podporujú aj mastocyty, zložky komplementu a C-reaktívny proteín (CRP). Aktivované mastocyty tvorbou histamínu, chymázy a tryptázy podporujú destabilizáciu aterosklerotického plaku a tvorbou endogénnych vazokonstriktorov rozvoj koronárneho spazmu. Schopnosť makrofágov sa aktivovať má mimoriadne dôležitú úlohu v ruptúre aterosklerotického plaku. U osôb s geneticky danou vyššou schopnosťou makrofágov môže dôjsť k ruptúre aj menšieho aterosklerotického plaku a tým k trombóze a rozvoju ischémie, dokonca aj v prípade malého množstva koronárneho aterómu. Z uvedeného vyplýva, že dva rovnaké aterómy nemusia byť rovnaké, nemusia mať rovnakú prognózu a za ten

rozdiel môže genetický polymorfizmus, napríklad nerovnaká schopnosť makrofágov sa aktivovať (8). Zápal má dôležitú úlohu aj v rozvoji postischemickej orgánovej dysfunkcie pri akútnych koronárnych syndrómoch, navyše aj v procese hojenia infarktu myokardu (9). Z uvedeného vyplýva význam vyšetrenia nešpecifických ukazovateľov zápalu u pacientov s kardiovaskulárnymi chorobami.

CRP, jeho tvorba, regulácia tvorby a plazmové/sérové hladiny CRP

CRP ako súčasť odpovede akútnej fázy sa pôvodne považoval za marker prebiehajúcej infekcie alebo poškodenia tkanív. Neskôr sa zistilo, že je aj markerom chronického systémového zápalu a tiež, že existuje určitá asociácia medzi zvýšenou hladinou CRP a priebehom akútneho IM a ďalších foriem akútneho koronárneho syndrómu (10, 11). Dokázalo sa, že CRP je lepším prediktorom rizika kardiovaskulárnych príhod než koncentrácia LDL (12). Jeho zvýšené hodnoty predstavujú rizikový faktor progresie aterosklerózy a jej komplikácií aj u inak zdravých jedincov (13).

Plazmový (sérový) CRP je prevažne tvorený hepatocyty a jeho tvorba je pod kontrolou cytokínu IL-6. Fyziologické hodnoty u dospelých sú v priemere $1,3 \text{ mg.l}^{-1}$ (14). Medián CRP hodnôt je o málo vyšší u zjavne zdravých dospelých osôb než u darcov krvi a je charakteristický pre každého jedinca. Koncentrácia CRP nevykazuje sezónne ani diurnálne výkyvy a neovplyvňuje ju ani príjem potravy (11, 15). Hladina CRP má tendenciu zvyšovať sa vekom, čo svedčí o zvýšenej incidencii subklinických patologických procesov (10, 16). Po jedinom stimule stúpajú sérové koncentrácie CRP asi za šesť hodín na hodnoty vyššie ako 5 mg.l^{-1} a dosahujú vrchol za 48 hodín. Zhruba rovnako rýchlo sa vracajú k veľmi nízkym „referenčným hodnotám“, ktoré v plazme dosahujú niekoľko mg.l^{-1} (16, 17). Expresia CRP je regulovaná predovšetkým na transkripčnej úrovni. Gén kódujúci CRP sa nachádza na 1. chromozóme v oblasti 1q2.1 až 2.5. Hlavným induktorom prepisu génu je IL-6. Synergicky s ním pôsobí aj IL-1 a zložky komplementu. Významnú regulačnú úlohu tu majú aj posttranskripčné mechanizmy (17). Počas rozpadu CRP v plazme je asi 19 hodín a je konštantný pri rozličných podmienkach u zdravých aj chorých, takže jediným faktorom určujúcim koncentráciu CRP je rýchlosť jeho syntézy (18, 19), čo priamo odráža intenzitu patologického procesu, ktorý stimuluje tvorbu CRP.

Vysokosenzitívny CRP (hsCRP) – význam v diagnostike a monitorovaní kardiovaskulárnych chorôb

Uprostred deväťdesiatych rokov 20. storočia sa zaviedla metóda (imunoassay – ELISA) na stanovenie vysokosenzitívneho CRP (hsCRP), ktorá mala oveľa vyššiu senzitivitu ako klasická metóda, ktorou sa hladina CRP dovtedy vyšetrovala. Ukázalo sa, že zvýšené hladiny hsCRP, predtým považované ešte za referenčné, majú silnú prediktívnu hodnotu pre rozvoj koronárnych príhod v budúcnosti. Prvé práce tohto druhu sa týkali pacientov so stabilnou, nestabilnou a ťažkou nestabilnou AP. Poukázali na prediktívny význam merania hladiny hsCRP vzhľadom na rozvoj budúcich koronárnych dejov. Tieto zistenia podnietili široký záujem o výpovednú hodnotu hsCRP. Vznikali štúdie demonštrujúce vzťah medzi zvýšenou hladinou hsCRP a rozvojom aterosklerotických dejov v budúcnosti, akými sú koronárne príhody, náhla cievna mozgová príhoda, choroby periférnych artérií (10, 12). Zvýšené koncentrácie hsCRP sa našli aj u pacientov s chronickým zlyhávaním srdca, s diastolickým srdcovým zlyhávaním a dilatálnou kardiomyopatiou (20, 21). Podľa hladiny hsCRP sa dokonca vytvorila škála rizika kardiovaskulárnej choroby (22) (tabuľka 2).

Tabuľka 2 Škála rizika kardiovaskulárnych chorôb podľa hladiny hsCRP – podľa American Heart Association (23)

Table 2 The risk scale of cardiovascular diseases according to the level of hsCRP – according to American Heart Association (23)

Riziko kardiovaskulárnej choroby (The risk of cardiovascular disease)	Hladina hsCRP (Level of hsCRP)
Nízke (Low)	< 1 mg . l ⁻¹
Stredné (Moderate)	1 – 2 mg . l ⁻¹
Vysoké (High)	2 – 3 mg . l ⁻¹
Infekcie (Infections)	3 – 10 mg . l ⁻¹

Korelácia CRP s cytokínmi, chemokínmi a inými nešpecifickými markermi zápalu pri kardiovaskulárnych chorobách

Zistilo sa, že hladina CRP tesne koreluje aj s inými nešpecifickými markermi zápalu, ktoré vykazujú podobnú, i keď niektoré z nich menej signifikantnú prediktívnu asociáciu s budúcou koronárnou príhodou. Mnohé štúdie poukázali na skutočnosť, že zvýšená hladina fibrinogénu, CRP a IL-6 je asociovaná s rizikom rozvoja koronárnej choroby srdca, jej priebehom, prognózou a závažnosťou aterosklerózy (23). Podobná asociácia sa

našla aj pri vyšetrovaní hladín IL-8, pričom riziko rozvoja koronárnej choroby srdca bolo vyššie u mužov ako u žien a nezáviselo od tradičných rizikových faktorov a CRP (24). Naznačuje to, že IL-8 odráža subklinickú aterosklerózu. Ďalšími markermi, ktoré predikujú mortalitu a závažnosť kardiovaskulárnej choroby sú aj koncentrácie zložiek komplementu, najmä pomer C3/C4 hladín komplementu a hladina BNP (brain natriuretic peptid) (7, 23, 25).

Práca Zouridakisa a spol. poukázala na štyri markery predikujúce rýchlu progresiu koronárnej choroby srdca – CRP, sICAM (solubilná intercelulárna adhezívna molekula), neopterin a MMP-9 (matrixová metaloproteináza) (26). Ich hladiny sú vyššie u „progresorov“ ako u „neprogresorov“. Zistili, že pacienti s koncentráciou CRP v strednom kvartile majú trikrát väčšie riziko progresie koronárnej choroby srdca v porovnaní s pacientmi v najnižšom kvartile, pacienti s hladinou sICAM vyššou ako 271,4 ng . ml⁻¹ (priemer) majú štyrikrát väčšie riziko než pacienti v najnižšom kvartile. Jedinci s hladinou neopterinu vyššou ako 7,5 nmol . l⁻¹ (stredný kvartil) majú päťkrát väčšie riziko rozvoja a progresie koronárnej choroby srdca v porovnaní s osobami s hladinou neopterinu s najnižším kvartilom. Pacienti s koncentráciou MMP-9 vyššou ako 47,9 mg . l⁻¹ (medián) majú trikrát väčšie riziko progresie koronárnej choroby srdca v porovnaní s pacientmi v najnižšom kvartile. Keďže posledné dva markery sú indikátormi aktivity makrofágov, stanovenie stavu aktivácie makrofágov sa zdá byť užitočné u vnímavších pacientov – systémová terapia by u nich mohla zabrániť rozvoju alebo progresii koronárnej choroby srdca (26).

CRP a prozápalové cytokíny – príčina aj následok zápalového procesu

Do akej miery sú prozápalové cytokíny a CRP len markermi odpovede akútnej fázy a do akej miery aktívnymi účastníkmi zápalového procesu, je diskutabilné. V patogenéze koronárnej choroby srdca, ako aj aterosklerózy majú dôležitú úlohu chemokíny. K najdôležitejším patria MCP-1 (monocytovej chemotaktický proteín), MIP-1alfa (makrofágový zápalový proteín), IP-10 (IFN-gama indukibilný proteín s Mr = 10 000), RANTES (regulated on activation normal T-cell expressed and secreted) a eotaxin (30). MCP-1, inak tiež CCL2 (MCP-1/CCL2) pôsobí chemotakticky na monocyty, T-lymfocyty a NK bunky, ktoré majú v procese aterogenézy významnú úlohu (9, 27, 28).

V procese aterogenézy a aterotrombózy majú dôležitú úlohu aj prozápalové cytokíny TNF-alfa a IL-6. Zvý-

šené hladiny prozápalového cytokínu IL-6 sa našli u pacientov s nestabilnou angínou pectoris, kde zápalové reakcie môžu urýchliť prechod od stabilného aterosklerotického plaku do nestabilného (29, 30). Ukázalo sa tiež, že sérová hladina CRP dokáže predikovať budúcu kardiovaskulárnu príhodu alebo mortalitu na koronárnu chorobu srdca dokonca u zdravých osôb (10, 13). Tieto pozorovania poukazujú na možnosť, že progresia aterosklerózy, ako aj ruptúra plaku by mohli byť predikované zvýšenou hladinou CRP. Prozápalové cytokíny TNF-alfa, IL-6, IL-1, ako aj CRP sú okrem pečene vo veľkom množstve produkované aj adipocytmi. Tvorba IL-6 stúpa s adipozitou a približne 30 % IL-6 u zdravých jedincov pochádza z adipocytov. Tieto cytokíny inhibujú signalizáciu cez inzulín, navodzujú inzulinorezistenciu a potencujú tiež rozvoj syndrómu endotelovej dysfunkcie – zvyšujú expresiu adhezívnych molekúl, protrombotických faktorov, proteínov akútnej fázy, ktoré spätne môžu zvýšiť kardiovaskulárne riziko (29, 30). Zistilo sa, že hladina CRP a prozápalových cytokínov koreluje s tlakom krvi, dyslipidémiou, hladinou HDL (high density lipoproteins) a triacylglycerolov, fajčením, diabetom, inzulinovou rezistenciou, markermi endotelovej dysfunkcie a obezitou. Našla sa aj korelácia s BMI (body mass index), čo by mohlo čiastočne odrážať aj skutočnosť, že značná časť bazálneho CRP a IL-6 sa tvorí aj v adipocytoch. Pokles hmotnosti bol asociovaný s poklesom sérovej hladiny CRP dokonca aj u zdravých jedincov (13, 16, 31, 32).

Čo odrážajú nešpecifické zápalové markery u kardiovaskulárnych chorôb?

Ďalšia otázka je, čo vlastne odrážajú tieto nešpecifické zápalové markery. Do úvahy prichádzajú štyri možnosti, z toho prvé tri, či už priamo alebo nepriamo zdôrazňujú úlohu aterosklerózy: 1. Ateroskleróza, rozvoj plaku, jeho destabilizácia, ruptúra a následná aterosklerotická sú zápalové deje. Prvým predpokladom by mohlo byť, že vzostup zápalových markerov je odrazom zápalu cievnej steny a odrážajú jej rozsah. To je možné, ale existujú aj konfliktne výsledky, ktoré sa týkajú hladiny CRP a veľkosti aterosklerotického plaku. Túto diskrepanciu by mohli vysvetliť zistenia o genetickej polymorfности, ktorá vedie k rôznej aktiváčieschopnosti makrofágov. Táto vysvetľuje možnosť ruptúry aj malého aterosklerotického plaku u geneticky predisponovaných jedincov (8). 2. Chronická systémová nevaskulárna infekcia je taktiež proaterogénna a akútne systémové zápalové epizódy sú výrazne asociované s aterosklerotickými procesmi (33). CRP

tak môže poukazovať na zápalový proces niekde v tele, hoci nie je úplne jasný dôkaz pre koreláciu s hladinou protilátok proti *Chlamydia pneumoniae* a *Helicobacter pylori* s rozvojom koronárnej choroby srdca (34). 3. Všeobecne, vyššie spomínané asociácie hladín CRP a IL-6, ktoré súvisia s BMI a rizikovými faktormi ICHS, zvyšujú možnosť, že zápalové markery asociované s rizikom aterosklerózy by mohli poukazovať na istý metabolický stav, ktorý je tiež proaterogénny a predisponuje k aterosklerotickým dejom, čiže je aj prozápalový. Hladina CRP predikuje rozvoj diabetu 2. typu nezávisle od tradičných rizikových faktorov (35). U inzulin rezistentných obéznych jedincov zvýšené hladiny CRP klesajú paralelne s úpravou inzulinovej rezistencie, ktorá súvisí s poklesom hmotnosti (36). 4. Štvrtou možnosťou je, že jednotlivci sa odlišujú senzitivitou na rôzne stimuly, ktoré navodzujú už nízku tvorbu proteínov akútnej fázy, a tak tí, čo reagujú väčším vzostupom CRP („higher CRP responders“) – či už cez genetický mechanizmus alebo rôzne iné získané mechanizmy (napríklad BMI), sú jednoducho viac vnímaví k progresii a komplikáciám aterosklerózy, bez zreteľa na príčinnú súvislosť.

Genetika zápalovej odpovede pri kardiovaskulárnych chorobách. Základné pojmy

Ľudia sa odlišujú rizikom rozvoja a úmrtnia na rôzne choroby, aj kardiovaskulárne a odlišujú sa aj zápalovou odpoveďou. Štúdie u zvierat aj ľudí poukazujú na účasť génového polymorfizmu zápalových mediátorov pri rozvoji ischemickej choroby srdca, infarktu myokardu, angíny pectoris a iných chorôb srdca (37, 38).

Ľudské choroby sa podľa súvislosti s genetickými faktormi zjednodušene rozdeľujú do troch kategórií: 1. „monogénové choroby“ (spôsobené poruchou jedného génu), 2. komplexné choroby (s multigénovou, respektíve polygénovou predispozíciou) a 3. choroby bez genetickej predispozície. Najlepšie výsledky sa doteraz získali pri štúdiu „monogénových chorôb“. V ostatných rokoch sa však ťažisko záujmu presúva na štúdium komplexných chorôb podmienených viacerými génmi, ku ktorým patrí väčšina celospoločensky závažných chorôb, medziinými aj kardiovaskulárne choroby.

K najčastejším typom génových polymorfizmov patria polymorfizmy v jedinom nukleotide (single nucleotide polymorphism – SNP), pričom môže ísť o zámenu, inzerciu alebo deléciu, a opakované (repetičné) polymorfizmy, ktoré sa odlišujú počtom opakovaní krátkej nukleotidovej sekvencie (**obrázok 1**). Varianty génov, ktoré

Polymorfizmus jednotlivého génu (<i>Single nucleotide polymorphism – SNP</i>)		
...AGCAGGA T AGATTACTTTAA...	– alela 1	(allele 1)
...AGCAGGA G AGATTACTTTAA...	– alela 2	(allele 2)
Repetičné polymorfizmy (<i>Repetitive polymorphisms</i>):		
...GATAGTCTC CT AGTGCGTAC...	– alela 1	(allele 1)
...GATAGTCTC CTCT AGTGCGTAC...	– alela 2	(allele 2)
...GATAGTCTC CTCTCT AGTGCGTAC...	– alela 3	(allele 3)

Obrázok 1 Schéma najčastejších typov DNA polymorfizmov
Figure 1 Scheme of the most frequent DNA polymorphisms

majú vplyv na expresiu génov, sa označujú ako funkčné génové polymorfizmy. SNP polymorfizmy sa môžu vyskytovať v kódujúcej, regulačnej, alebo aj nekódujúcej oblasti génu. Predpokladá sa, že väčšina polymorfizmov, ktoré majú úlohu pri genetickej predispozícii komplexných chorôb, sa nachádza v regulačných oblastiach génov (39). Vo vzťahu k chorobám rozlišujeme varianty génov (alely vnímavosti), ktoré svojho nositeľa predisponujú k chorobe (vyskytujú sa častejšie u chorých) a alely ochranné (protektívne), ktoré sú u pacientov v porovnaní s bežnou populáciou menej časté.

Genetika, zápal a kardiovaskulárne choroby

V prípade tak komplexných chorôb, ako sú kardiovaskulárne choroby, ide o polygénovú dedičnosť, t. j. viaceré gény môžu ovplyvniť ich rozvoj a priebeh. Okrem polymorfizmov génov lipidového metabolizmu, génov pre homocystein, pre faktory koagulácie, beta 2-adrenergických receptorov, génov pre reguláciu tlaku krvi a ďalších tu majú dôležitú úlohu aj gény pre zápalové faktory. Tých je tiež značné množstvo, podľa toho, na ktorej úrovni zápal regulujú. Našli sa polymorfizmy génov na ceste spoznávania antigénov (CD14, TLR /toll like receptor/), polymorfizmy génov pre prozápalové a protizápalové cytokíny, cytokínové receptory a antagonisty cytokínov, pre selektíny, integríny a adhezíny, rôzne efektorové molekuly a ďalšie (38, 40, 41).

Gén CRP a regulácia tvorby CRP

Zvýšená bazálna hladina hsCRP sa považuje za nezávislý rizikový faktor rozvoja kardiovaskulárnych chorôb. Príčinou zvýšených koncentrácií hsCRP pri bazálnych podmienkach môže byť určitý nízky stupeň chronického zápalu, ale tiež genetika. U ľudí sa gén pre CRP nachádza na chromozóme 1q23, v konzervovanej genetickej oblasti, ktorá kóduje dôležité proteíny imunitného systé-

mu a tiež proteíny, ktoré majú význam pri medzibunkovej komunikácii (42). Bazálne hladiny CRP u pacientov, ale aj zdravých kontrol sú geneticky determinované, pri opakovanom vyšetrovaní u zdravých jedincov relatívne nemenné, čo znamená, že poznanie genetickej zložky CRP môže prispieť k stratifikácii dovtedy zdravých jedincov do skupín s vyšším alebo nižším stupňom rizika rozvoja kardiovaskulárnych chorôb (15, 43, 44). Szalai a spol. (44) identifikovali v promótorovej oblasti CRP génu dva SNP, ktoré ovplyvnením väzby transkripčného faktora modulovali bazálnu koncentráciu CRP u zdravých ľudí. Výsledky „Framinghamskej štúdie srdca“ u 1 640 nepríbuzných účastníkov odhalili u deviatich SNP asociáciu s hladinou CRP (45). Poznanie faktorov, ktoré regulujú koncentrácie CRP, či už bazálne, ale aj indukované infekciou alebo akýmkoľvek zápalom, je veľmi dôležité okrem iného aj vzhľadom na predikciu rizika rozvoja kardiovaskulárnych chorôb. Zistilo sa napríklad, že hladiny CRP indukované zápalovým stimulom sú vyššie u pacientov s +1444C/T SNP CRP génu (46). Z toho vyplýva, že jedinci v závislosti od svojej génovej výbavy môžu na ten istý zápalový stimul reagovať odlišnou intenzitou tvorby CRP. Tento vplyv sa prejavil nezávisle od klasických kardiovaskulárnych rizikových faktorov a koncentrácie IL-6 (46).

Gény pre zápalové faktory ovplyvňujúce tvorbu CRP a iných nešpecifických markerov zápalu

Tvorba CRP je okrem génu pre CRP regulovaná aj génom pre IL-6 (IL-6 -174G/C SNP) a génmi pre IL-1 beta, IL-1Ra (46 – 48). U 160 pacientov s angiograficky dokázanou koronárnou chorobou srdca sa dokázala asociácia vyššej sérovej hladiny CRP s prítomnosťou alely IL-1B (+3954)T, a naopak možný vzťah IL-1RN(VNTR)*2 alely s nižšou koncentráciou CRP (47). Našla sa aj korelácia medzi vyššou sérovou hladinou CRP a prítomnosťou CD14 260TT homozygotnej alely, čo súvisí s vyššou schopnosťou (chtivosťou) makrofágov sa aktivovať a tvoriť prozápalové cytokíny (40, 41). Ako už bolo spomenuté, osoby s uvedenou alelou majú vyššiu tendenciu ruptúry už aj malého aterosklerotického plaku, práve vzhľadom na tendenciu k intenzívnejšej zápalovej reakcii (8).

Zistilo sa, že aj sérové hladiny solubilných markerov endotelového zápalu, akými sú von Willebrandov faktor (vWF) a E-selektín, sú pod vplyvom génových variácií v lokuse IL-1. Konkrétne nosičstvo alely IL-1RN*2 a genotyp IL-1B v pozícii –511 moduláciou tvorby uvedených faktorov výrazne ovplyvňujú zápalový proces (49).

Génový polymorfizmus MCP-1/CCL2 a jeho receptora CCR2 vo vzťahu k riziku a priebehu kardiovaskulárnych chorôb – možnosť využitia poznatkov v praxi

Prozápalové cytokíny a chemokíny majú tiež dôležitú úlohu v patogenéze srdcových chorôb (32). Medzi najviac študované patria polymorfizmy génu pre chemokín MCP-1 (synonymum CCL2) – molekulu, ktorá má dôležitú úlohu v rozvoji aterosklerózy. Svojou chemotaktickou aktivitou pre monocyty a lymfocyty zabezpečuje ich prísun do zápalového ložiska, aktiváciu, ako aj prechod do nestabilného aterosklerotického plaku. Ukázalo sa, že molekula MCP-1/CCL2 je tiež jednou z najdôležitejších molekúl zodpovedných za postischemickú infiltráciu monocytmi a má úlohu aj pri zvyšovaní permeability mozgovocievnej bariéry, ako aj jej otvárania počas náhlej cievnej mozgovej príhody (50, 51). Dupuis a spol. (52) v rámci „Framinghamskej štúdie srdca“ (Framingham Heart Study) identifikovali viaceré gény na chromozóme 1, ktoré ovplyvňujú expresiu a tvorbu zápalových biomarkerov, najmä MCP-1 a sICAM-1, čím môžu prispievať k rozvoju kardiovaskulárnych chorôb. Vyslovili hypotézu, že tvorbu biomarkerov vaskulárneho zápalu geneticky moduluju aj faktory prostredia a že identifikácia génov ovplyvňujúcich ich syntézu zlepši chápanie genetického pozadia kardiovaskulárnych chorôb. Zistilo sa tiež, že prítomnosť MCP-1-2578G alely v CCL2 regulačnej oblasti sa spája s vyššou sérovou hladinou MCP-1 a v homozygotnej podobe s výskytom infarktu myokardu (53). Zistilo sa, že CCR2 -/- myši (t. j. myši, ktorým chýba gén kódujúci CCR2, v dôsledku čoho sa u nich vplyv MCP-1 nemôže prejaviť) vykazujú po ischemicko-reperfúznom poškodení menšie infarktové ložisko. Nález koreloval so zníženým oxidatívnym stresom ich leukocytov (54). Je predpoklad, že inhibícia CCL2/CCR2 osi narušuje ischemicko-reperfúzne poškodenie tým, že znižuje edém, infiltráciu leukocytmi a expresiu zápalových mediátorov (51). A tak sa ukazuje, že os CCL2/CCR2 má v rozvoji zápalu po ischemii a reperfúzii dôležitú úlohu a mohla by sa v budúcnosti stať novým terapeutickým cieľom u vybraných kardiovaskulárnych chorôb a tiež náhlej cievnej mozgovej príhody. Avšak iní autori to nevidia s blokádou MCP-1/CCR2 ako preventívnym a liečebným postupom v prípade kardiovaskulárnych chorôb tak jednoznačne. Ukazuje sa totiž, že chemokín MCP-1/CCL2 má pri rozvoji ischemie myokardu duálnu úlohu – okrem už spomínanej negatívnej úlohy v etiopatogenéze má aj úlohu pozitívnu – chráni kardiálne myocyty pred smrťou indukovanou hypoxiou. Navyše sa jej úloha odlišuje v akútnom a chronickom zápalovom procese (27, 28, 55).

A tak sa v budúcnosti prípadné použitie nového sľubného terapeutického prostriedku namiereného proti pôsobeniu jedného z kľúčových molekúl rozvoja aterosklerózy – MCP-1/CCL2 a jeho receptora CCR2 bude musieť individuálne zvažovať.

Záver

Vaskulárny zápal má hlavnú úlohu pri rozvoji aterosklerózy a zápalové biomarkery, ako CRP, IL-6, MCP-1 a sICAM-1 predikujú riziko rozvoja kardiovaskulárnej choroby (50). Zistenie génov, ktoré ovplyvňujú systémové hladiny zápalových biomarkerov, by mohlo poskytnúť pohľad do genetickej výbavy faktorov určujúcich vaskulárny zápal a rozvoj kardiovaskulárnych chorôb. Avšak polymorfizmus génov pre zápalové faktory má v tak komplexných reakciách, ako je ateroskleróza a koronárne príhody síce značnú, ale predsa len čiastkovú úlohu. Ťažko možno prisúdiť jedinú genetickú variantu k polygénovej a multifaktoriálnej chorobe. Jej prítomnosť môže byť ovplyvnená jedným alebo viacerými dominantnými klasickými rizikovými faktormi. Dôležitú úlohu tu zohrávajú aj polymorfizmy ostatných faktorov, ktoré majú v patogenéze uvedených chorôb svoje miesto. Komplexnejší obraz prinesie až budúcnosť, kedy metodika mikročipov umožní rýchle overenie konkrétnej zostavy stoviek až tisícov génov u každého človeka.

Literatúra

1. Bucová M. Sepsa – etiopatogenéza. *Inter med* 2006;6:204–211.
2. Itoh T, Mizuno Y, Harada E, et al. Coronary spasm is associated with chronic low-grade inflammation. *Circ J* 2007;71:1074–1078.
3. Li JJ. Inflammation: an important mechanism for different clinical entities of coronary artery diseases. *Chin Med* 2005;118:1817–1826.
4. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature* 2002;420:868–874.
5. Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340:115–126.
6. Aukrust P, Yndestad A, Smith C, et al. Chemokines in cardiovascular risk prediction. *Thromb Haemost* 2007;97:748–754.
7. Palikhe A, Sinisalo J, Seppänen M, et al. Serum complement C3/C4 ratio, a novel marker for recurrent cardiovascular events. *Am J Cardiol* 2007;99:890–895.
8. Kondo T, Ohno M, Shimokata K, et al. CD14 promoter polymorphism is associated with acute myocardial infarction resulting from insignificant coronary artery stenosis. *Heart* 2003;89:931–932.
9. Dewald O, Pawel Z, Winkelmann K, et al. CCL2/Monocyte chemoattractant protein11 regulates inflammatory responses critical to healing myocardial infarcts. *Circ Res* 2005;96:881–889.

10. Koenig W., Khuseynova N, Baumert J, et al. Increased concentrations of C-reactive protein and IL-6 but not IL-18 are independently associated with incident coronary events in middle aged men and women. Results from the MONICA/KORA Augsburg case-cohort study, 1984–2002. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006;26:2745–2751.
11. Pepys MB, Hirschfield GM. C-reactive protein: a critical update. *J Clin Invest* 2003;111:1805–1812.
12. Ridker PM. Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation* 2003;107:363–369.
13. Dvořáková A, Poledne R. Ultrasenzitivně měřený C-reaktivní protein – nový parametr kardiovaskulárního rizika. *Vnitr Lék* 2004;50:852–857.
14. Maruna P. Proteiny akutní fáze. *Fyziologie. Diagnostika. Klinika*. Praha: Maxdorf 2005:288.
15. Szalai AJ, McCrory MA, Cooper GS, et al. Association between baseline levels of C-reactive protein (CRP) and a dinucleotide repeat polymorphism in the intron of the CRP gene. *Genes Immun* 2002;3:14–19.
16. Čerovská J, Hoskovicová P, Vosátková M, et al. Prevalence hladin C-reaktivního proteinu u dospělé populace dvou regionů České republiky a jejich vztah k tělesnému složení. *Vnitr Lék* 2006;52:1045–1050.
17. Krejsek J, Kopecký O. *Klinická imunologie*. Hradec Králové: Nucleus 2004:941.
18. Aukrust P, Damas JK, Gullestad L, et al. Chemokines in myocardial failure – pathogenic importance and potential therapeutic target. *Clin Exp Immunol* 2001;124:343–345.
19. Szalai AJ. The biological functions of C-reactive protein. *Vasc Pharmacol* 2002;39:105–107.
20. Ishikawa C, Tsutamoto T, Fujii M, et al. Prediction of mortality by high-sensitivity C-reactive protein and brain natriuretic peptide in patients with dilated cardiomyopathy. *Circ J* 2006;70:857–863.
21. Xue C, Feng Y, Wo J, et al. Prognostic value of high-sensitivity C-reactive protein in patients with chronic heart failure. *N Z Med J* 2006;119:U2314.
22. Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: A statement for health care professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation* 2003;107:499–511.
23. Sukhija R, Fahdi I, Garza L, et al. Inflammatory markers, angiographic severity of coronary artery disease, and patient outcome. *Am J Cardiol* 2007;99:879–884.
24. Boekholdt SM, Peters RJG, Hack CE, et al. IL-8 plasma concentrations and the risk of future coronary artery disease in apparently healthy men and women. The EPIC-Norfolk prospective population study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24:1503–1508.
25. Itumur K, Karabulut A, Toprak G, et al. Complement activation in acute coronary syndromes. *APMIS* 2005;113:167–174.
26. Zouridakis E, Avanzas P, Arroyo-Espiguero R, et al. Markers of inflammation and rapid coronary artery disease progression in patients with stable angina pectoris. *Circulation* 2004;110:174–183.
27. Tarzami ST, Cheng R, Miao W, et al. Chemokine expression in myocardial ischaemia: MIP-2 dependent MCP-1 expression protects cardiomyocytes from cell death. *J Mol Cell Cardiol* 2002;34:209–221.
28. Tarzami ST, Calderon TM, Deguzman A, et al. MCP-1/CCL2 protects cardiac myocytes from hypoxia induced apoptosis by a G_{ai}-independent pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;335:1008–1016.
29. Kremen J, Dolinkova M, Krajickova J, et al. Increased subcutaneous and epicardial adipose tissue production of proinflammatory cytokines in cardiac surgery patients: possible role in postoperative insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:4620–4627.
30. Yudkin JS, Stehouwer CDA, Emeis J, et al. C-reactive protein in healthy subjects: Associations with obesity, insulin resistance, and endothelial dysfunction. A potential role for cytokines originating from adipose tissue? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:972–978.
31. Bermudez EA, Rifai N, Buring J, et al. Interrelationships among circulating IL-6, C-reactive protein, and traditional cardiovascular risk factors in women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22:1668–1673.
32. Rothenbacher D, Müller-Schölze S, Herder C, et al. Differential expression of chemokines, risk of stable coronary heart disease, and correlation with established cardiovascular risk markers. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006;26:194–199.
33. Danesh J, Collins R, Peto R. Chronic infections and coronary heart disease.: is there a link? *Lancet* 1997;350:430–436.
34. Danesh J, Whincup P, Walker M, et al. Low grade inflammation and coronary heart disease: a prospective study and updated meta-analyses. *BMJ* 2000;321:199–204.
35. Freeman DJ, Norrie J, Caslake MJ, et al. C-reactive protein is an independent predictor of risk for development of diabetes in the West of Scotland Coronary Prevention Study. *Diabetes* 2002;51:1596–1600.
36. McLaughlin T, Abbasi F, Lamendola C, et al. Differentiation between obesity and insulin resistance in the association with C-reactive protein. *Circulation* 2002;106:2908–2912.
37. Knowles JW, Maeda N. Genetic modifiers of atherosclerosis in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:2336–2345.
38. Andreotti F, Porto I, Crea F, et al. Inflammatory gene polymorphisms and ischaemic heart disease: review of population association studies. *Heart* 2002;87:107–112.
39. Tsuchiya N, Hashi J, Tokunaga K. Variations in immune response genes and their associations with multifactorial immune disorders. *Immunol Rev* 2002;190:169–181.
40. Bernardo E, Angiolillo DJ, Ramirez C, et al. Influence of CD14 C260T promoter polymorphism on C-reactive protein levels in patients with coronary artery disease. *Am J Cardiol* 2006;98:1182–1184.
41. Espiguero AR, Sharnouby EK, Rey VA, et al. CD14 C(-260)T promoter polymorphism and prevalence of acute coronary syndromes. *Int J Cardiol* 2005;98:307–312.
42. Suk HJ, Ridker PM, Cook NR, et al. Relation of polymorphism within the C-reactive protein gene and plasma CRP levels. *Atherosclerosis* 2005;178:139–145.
43. Crawford DC, Sanders CL, Qin X, et al. Genetic variation is associated with C-reactive protein levels in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Circulation* 2006;114:2458–2465.
44. Szalai AJ, Wu J, Lange EM, et al. Single-nucleotide polymorphisms in the C-reactive protein (CRP) gene promoter that affect transcription factor

-
- binding, alter transcriptional activity, and associate with differences in baseline serum CRP level. *J Mol Med* 2005;83:440–447.
45. Kathiresan S, Larson MG, Vasan RS, et al. Contribution of clinical correlates and 13 C-reactive protein gene polymorphisms to interindividual variability in serum C-reactive protein level. *Circulation* 2006;113:1415–1423.
46. D'Aiuto F, Casas JP, Shah T, et al. C-reactive protein (+1444C>T) polymorphism influences CRP response following a moderate inflammatory stimulus. *Atherosclerosis* 2005;179:413–417.
47. Latkovskis G, Licis N, Kalnins U. C-reactive protein levels and common polymorphisms of the interleukin-1 gene cluster and interleukin-6 gene in patients with coronary heart disease. *Eur J Immunogenet* 2004;31:207–213.
48. Vickers MA, Green FR, Terry C, et al. Genotype at a promoter polymorphism of the interleukin-6 gene is associated with baseline levels of plasma C-reactive protein. *Cardiovasc Res* 2002;53:681–689.
49. Ray KK, Camp NJ, Bennett CE, et al. Genetic variation at the interleukin -1 locus is a determinant of changes in soluble endothelial factors in patients with acute coronary syndromes. *Clin Sci* 2002;103:303–310.
50. Dimitrijevic OB, Stamatovic SM, Keep RF, et al. Effects of chemokine CCL2 on blood brain barrier permeability during ischemia-reperfusion injury. *J Cereb Blood Flow Metab* 2006;26:797–810.
51. Dimitrijevic OB, Stamatovic SM, Keep RF, et al. Absence of chemokine receptor CCR2 protects against cerebral ischemia/reperfusion injury in mice. *Stroke* 2007;38:1345–1353.
52. Dupuis J, Larson MG, Vasan RS, et al. Genome scan of systemic biomarkers of vascular inflammation in the Framingham Heart Study : Evidence for susceptibility loci on 1q. *Atherosclerosis* 2005;182:307–314.
53. McDermott DH, Yang Q, Kathiresan S, et al. CCL2 polymorphisms are associated with serum monocyte chemoattractant protein-1 levels and myocardial infarction in the Framingham heart study. *Circulation* 2005;112:1113–1120.
54. Hayasaki T, Kaikita K, Okuma T, et al. CC chemokine receptor 2-deficiency attenuates oxidative stress and infarct size caused by myocardial ischemia reperfusion in mice. *Circ J* 2006;70:342–351.
55. Rosas MM. Cardiac remodeling and inflammation. *Arch Cardiol Mex* 2007;77:58–66.