

Vztah bilirubinu k nemocem vyvolaným zvýšeným oxidačním stresem

L. Vítek^{1,2}

¹ IV. interní klinika 1. lékařské fakulty UK a VFN Praha, přednosta prof. MUDr. Aleš Žák, DrSc.

² Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky 1. lékařské fakulty UK a VFN Praha, přednosta prof. MUDr. Tomáš Zima, DrSc., MBA

Souhrn: Oxidační stres hraje významnou roli v patogenezi celé řady civilizačních onemocnění, kardiovaskulárními chorobami počínaje, přes nemoci nádorové až po onemocnění autoimunitní a neurodegenerativní. Bilirubin je hlavním produktem katabolické dráhy hemu v krevním řečišti. Po dlouhou dobu byl považován pouze za odpadní produkt katabolizmu hemu, data z posledních 20 let však prokazují jeho významné antioxidační vlastnosti, kterými se spolupodílí na ochraně před zvýšeným oxidačním stresem. Dnes již existuje mnoho desítek experimentálních i klinických studií dokumentujících asociaci mezi nízkými koncentracemi bilirubinu v cirkulaci a nemocemi srdce a cév, cukrovkou, některými zhoubnými nádory, autoimunitními nemocemi, jako jsou lupus erythematosus nebo revmatoidní artritida, či neurologicko-psychiatrickými chorobami, jako je např. schizofrenie. Naopak jedinci s mírně zvýšenými koncentracemi bilirubinu v krvi, typicky pozorovanými např. u Gilbertova syndromu, mají rizika těchto chorob výrazně snížena.

Klíčová slova: bilirubin – oxidační stres – antioxidant – Gilbertův syndrom

Relationship of bilirubin to diseases caused by increased oxidative stress

Summary: Oxidative stress contributes importantly to pathogenesis of numerous civilization diseases, including cardiovascular diseases, cancer, as well as autoimmune and neurodegenerative conditions. Bilirubin is the major product of the heme catabolic pathway in the intravascular compartment. For long time, bilirubin was considered to be only a waste product, however, recent data from the last 2 decades have proved its important antioxidant properties, which contributes to defense against increased oxidative stress. Numerous experimental as well as clinical studies have demonstrated association between low bilirubin concentrations and cardiovascular diseases, diabetes, certain cancers, autoimmune diseases, such as lupus erythematosus, or rheumatoid arthritis or neurological-psychiatric disorders, such as schizophrenia. On the other hand, subjects with mildly elevated blood bilirubin levels, typical for Gilbert syndrome, have decreased risk of these diseases.

Key words: bilirubin – oxidative stress – antioxidant – Gilbert syndrome

Úvod

Bilirubin, hlavní žlučový pigment, je konečným produktem katabolizmu hemu v systémové cirkulaci člověka. Ačkoli byl po dlouhou dobu považován jen za potenciálně nebezpečnou látku zejména z pohledu možného toxického poškození centrálního nervového systému, údaje z poslední doby přesvědčivě ukazují, že mírná elevace hladin bilirubinu v séru má v důsledku jeho silných antioxidačních a dalších biologických vlastností pro organizmus významný ochranný účinek. Týká se to především nemocí, v jejichž patogenezi hraje velkou roli oxidační stres, jako jsou ateroskleróza, některé nádorové choroby, či zánětlivá, autoimunitní nebo neurodegenerativní onemocnění [1–4]. Na druhou stranu bylo prokázáno, že příliš nízké koncentrace

bilirubinu v krevním séru jsou asociovány s vyšším rizikem těchto chorob. Důvody těchto asociací nejsou v současnosti zcela jasné, podle teorie reverzní kauzality je pravděpodobné, že u onemocnění sdružených s vysokým oxidačním stresem dochází ke zvýšené konzumaci antioxidačně působícího bilirubinu. Není ovšem vyloučeno, že za nízké hladiny bilirubinu u jedinců postižených těmito nemocemi mohou alespoň částečně genetické faktory.

Fyziologická vs patologická bilirubinémie

Fyziologické koncentrace (nekonjugovaného) bilirubinu v krevním séru se u dospělého člověka pohybují v rozmezí 3–17 $\mu\text{mol/l}$. Tento všeobecně přijímaný fakt však není úplně správný. Koncentrace bilirubinu v krvi nejsou

v populaci normálně rozloženy, ale z epidemiologických studií vyplývá, že distribuce bilirubinu má bimodální charakter s 2 vrcholy, první, větší v rozmezí 7–10 $\mu\text{mol/l}$, a druhý, menší v oblasti 15–20 $\mu\text{mol/l}$, což je dáno faktem, že zhruba 5–9 % populace má tzv. Gilbertův syndrom, neboli syndrom benigní hyperbilirubinémie (u kterého se za typické považují koncentrace bilirubinu v rozmezí 17–70 $\mu\text{mol/l}$). Vzhledem k tomu, že bilirubin v těchto koncentracích nepředstavuje pro tyto jedince prakticky žádná rizika (s výjimkou vyššího rizika pigmentové cholelitiázy), je otázkou, zdali mají být koncentrace bilirubinu nad 17 $\mu\text{mol/l}$ považovány za patologické. Podobnou výhradu je možné mít i pro dolní mez koncentrací bilirubinu. Jak bude uvedeno dále, bilirubin je silným ne-

gativním prediktorem (nejen) kardiovaskulárních chorob, podobně jako koncentrace HDL-cholesterolu. Jedinci s koncentracemi bilirubinu pod 7 $\mu\text{mol/l}$ mají o 30 % vyšší riziko kardiovaskulárního onemocnění v porovnání s těmi, kteří mají hladiny bilirubinu nad 10 $\mu\text{mol/l}$ [5]. Z našich vlastních rozsáhlých klinických pozorování také vyplývá, že systémová onemocnění jsou většinou sdružena s koncentracemi bilirubinu pod 7 $\mu\text{mol/l}$, nejspíše v důsledku jeho konsumpce při vysokém oxidačním stresu doprovázejícím tato onemocnění.

Je třeba mít ovšem také na paměti, že koncentrace bilirubinu v krevním séru kolísají v závislosti na mnoha faktorech, jako jsou např. diurnální rytmus, hladovění, abúzus alkoholu, specifické dietetické faktory, fyzická námaha či interkurentní onemocnění [1].

Biologické vlastnosti bilirubinu

Jak již bylo uvedeno, bilirubin byl po dlouhou dobu považován jen za potenciálně toxický metabolit katabolické dráhy hemu, zejména s ohledem na možnost poškození centrálního nervového systému. Ačkoli první zmínky o možných antioxidačních vlastnostech bilirubinu se objevily v odborné literatuře již v roce 1954 [6], trvalo několik dalších desítek let, než byly tyto potenciálně ochranné vlastnosti obecně přijaty. Zásadní význam měla práce Stockera et al publikovaná v roce 1987 v časopise Science, potvrzující jednoznačně antioxidační vlastnosti bilirubinu [7]. Posléze bylo v experimentu prokázáno, že bilirubin je 30krát účinnější v prevenci oxidace LDL než vitamin E [8]. Tyto výsledky byly potvrzeny v celé řadě klinických studií, podle kterých je bilirubin hlavní antioxidantem podílejícím se na celkové antioxidační kapacitě krevního séra [9]. Nicméně nejsou to jen antioxidační vlastnosti, kterými působí tento žlučový pigment protektivně. Bilirubin má významné protizánětlivé účinky [1], ovlivňuje významně expresi endoteliálních adhezivních molekul, čímž brání endoteliální

dysfunkci [10,11]. Bilirubin také blokuje aktivaci komplementového systému [12], snižuje hladiny C-reaktivního proteinu [13–15] a dokonce i moduluje funkci regulačních T-lymfocytů [16], což jsou všechno faktory významně ovlivňující patogenezi chronických zánětlivých, nádorových i autoimunitních onemocnění.

Vztah mezi koncentracemi bilirubinu v krvi

a kardiovaskulárními nemocemi

První práce popisující negativní vztah mezi bilirubinemií a aterosklerózou koronárního řečiště byla publikována již v roce 1994; nízké hladiny bilirubinu představovaly v této studii stejné riziko koronární aterosklerózy jako kouření, vysoký krevní tlak nebo nízké hladiny HDL-cholesterolu [17]. Naopak vyšší bilirubinémie, typické pro Gilbertův syndrom (benigní hyperbilirubinémii), jsou asociovány s významně nižším rizikem ischemické choroby srdeční [18]. Protektivní vliv bilirubinu byl potvrzen i v metaanalýze 11 studií čítajících celkem více než 10 000 mužů s jednoznačným závěrem, že vyšší hladiny bilirubinu opravdu chrání před rozvojem aterosklerózy. Jako hladina diskriminující kardiovaskulární riziko byla na základě této metaanalýzy určena sérová koncentrace bilirubinu 10 $\mu\text{mol/l}$. Současně bylo zjištěno, že nárůst sérového bilirubinu o každý 1 $\mu\text{mol/l}$ je asociován se snížením rizika ICHS o 6,5 % [5]. Nutno ovšem zdůraznit, že vyšší hladiny bilirubinu vyvolané chronickým jaterním onemocněním již žádnou protekci neposkytují a tito nemocní mají naopak vyšší riziko rozvoje aterosklerózy.

Ochranný účinek bilirubinu se nevztahuje přirozeně jen na koronární řečiště, existují důkazy o negativní asociaci mezi hladinami bilirubinu a aterosklerózou karotického řečiště [19]. O cytoprotektivním významu bilirubinu svědčí i fakt, že koncentrace bilirubinu v krevním séru představují stejně významný prediktor aterosklerózy, jakým jsou hladiny HDL-cholesterolu [1].

Klinických studií na téma ateroprotektivních vlastností bilirubinu existuje dnes již několik desítek a jejich popis přesahuje rámec této práce. Přehledové práce zabývající se touto problematikou však byly publikovány v nedávné době [1–4].

V souladu s významnými účinky bilirubinu na aterosklerózu koronárních i periferních tepen jsou i data prokazující vztah mezi hladinami bilirubinu v krevním séru a kardiovaskulární i celkovou mortalitou [20]. Bylo zjištěno, že sérové koncentrace bilirubinu < 6 $\mu\text{mol/l}$ významně zvyšují u mužů riziko celkové mortality v porovnání s jedinci s vyšší bilirubinemií; muži s mírnou hyperbilirubinemií měli riziko celkové úmrtnosti sníženo dokonce o celých 40 % [20].

Bilirubin, diabetes, metabolický syndrom a obezita

Ochranné účinky bilirubinu jsou skutečně systémové. Nízké koncentrace sérového bilirubinu jsou prediktorem porušené glukózové tolerance [21]. Jedinci s Gilbertovým syndromem, kteří onemocní diabetem, mají nižší výskyt vaskulárních komplikací v porovnání s normobilirubinemickou populací [22] a nízké hladiny bilirubinu jsou opět významným prediktorem kardiovaskulárních komplikací u diabetiků [23]. Z rozsáhlých epidemiologických studií vyplývá, že jedinci s koncentracemi bilirubinu nad 10 $\mu\text{mol/l}$ mají o 20 % nižší riziko vzniku cukrovky v porovnání s populací s hladinami bilirubinu pod touto hranicí [24].

V kontextu s těmito daty není překvapivé, že koncentrace bilirubinu jsou negativně asociovány i s metabolickým syndromem, jak bylo popsáno na dětské [25] i dospělé populaci [26–28]. Stejně tak není velkým překvapením, že podobný negativní vztah panuje i pro koncentrace bilirubinu a výskyt abdominální obezity [25–29]. Je zajímavé, že snižování tělesné hmotnosti je sdruženo s postupným zvyšováním systémových koncentrací bilirubinu, nejspíše v důsledku snížení oxidačního stresu doprovázejícího obezitu [30].

Bilirubin a nádorová onemocnění

Nejsou to jen kardiovaskulární onemocnění, kde působí bilirubin protektivně, bilirubin účinkuje pravděpodobně i protinádorově. Takto alespoň vyznívají recentní experimentální i klinické práce. Významnou je v tomto ohledu rozsáhlá studie Zuckera et al, kteří na populaci čítající téměř 177 milionů Američanů nad 17 let zjistili negativní vztah mezi hladinami bilirubinu a nedermatologickými malignitami [31]. Navíc zvýšení bilirubinu o 17 $\mu\text{mol/l}$ (tedy odpovídající fenotypu Gilbertova syndromu) bylo asociováno s 4násobně nižším výskytem kolorektálního karcinomu. Protektivní účinky bilirubinu na riziko kolorektálního karcinomu jsme prokázali i v naší studii publikované v loňském roce [32]. Podobné výsledky s negativním vztahem sérového bilirubinu k mortalitě na zhoubné nádory byly popsány i na rozsáhlé populaci z Belgie [33].

Bilirubin a další onemocnění podmíněná oxidačním stresem

Kromě výše diskutovaných kardiovaskulárních a nádorových onemocnění byla prokázána asociace nízkých hladin bilirubinu s celou řadou dalších onemocnění, v jejichž patogenezi hraje roli oxidační stres, jako jsou např. nemoci revmatologické, neurodegenerativní nebo psychiatrické.

Významně nižší hladiny bilirubinu byly popsány např. u nemocných se systémovým lupus erythematoses (SLE) [34]. Na základě detailní analýzy nemocných se SLE bylo zjištěno, že každé snížení hladiny bilirubinu o 1 $\mu\text{mol/l}$ v krevním séru je asociováno se zvýšením rizika pro toto onemocnění o 25 % [34].

Nízké hladiny bilirubinu byly také pozorovány u nemocných s amyotrofickou laterální sklerózou [35] a také schizofrenií [36]. V naší recentní studii jsme prokázali významný pokles rizika schizofrenie s každým zvýšením koncentrace sérového bilirubinu o 1 $\mu\text{mol/l}$ [36]. Gilbertovský fenotyp (bilirubin > 17 $\mu\text{mol/l}$) byl navíc v populaci nemocných se schi-

zofrenií 4krát méně častý než v kontrolní populaci (je zajímavé, že úplně stejný rozdíl ve frekvenci gilbertovského fenotypu byl zjištěn u výše zmiňovaných nemocných se SLE) [34].

Závěr

Stále více klinických dat dokazuje, že bilirubin hraje významnou roli v antioxidační ochraně organismu a jeho koncentrace v krvi jsou důležitým prediktorem nemocí asociovaných se zvýšeným oxidačním stresem. Existují dokonce snahy mírně zvýšit jeho hladiny v cirkulaci (vyvolat iatrogeně Gilbertův syndrom [37]) s cílem zvýšit antioxidační potenciál organismu. Je pravděpodobné, že podobným protektivním způsobem budou účinkovat i bilirubinu příbuzné rostlinné tetrapyryly (fykobiliny, ale pravděpodobně také chlorofyl), což nabízí velký prostor pro nutriční využití těchto látek.

Tato práce byla podpořena programem PRVOUK-P25/LF1/2 Univerzity Karlovy v Praze.

Literatura

1. Vitek L, Schwertner HA. The heme catabolic pathway and its protective effects on oxidative stress-mediated diseases. *Adv Clin Chem* 2007; 43: 1–57.
2. Schwertner HA, Vitek L. Gilbert syndrome, UGT1A1*28 allele, and cardiovascular disease risk: possible protective effects and therapeutic applications of bilirubin. *Atherosclerosis* 2008; 198: 1–11.
3. Vitek L, Ostrow JD. Bilirubin chemistry and metabolism: harmful and protective aspects. *Curr Pharm Des* 2009; 15: 2869–2883.
4. Lin JP, Vitek L, Schwertner HA. Serum bilirubin and genes controlling bilirubin concentrations as biomarkers for cardiovascular disease. *Clin Chem* 2010; 56: 1535–1543.
5. Novotny L, Vitek L. Inverse relationship between serum bilirubin and atherosclerosis in men: a meta-analysis of published studies. *Exp Biol Med* (Maywood) 2003; 228: 568–571.
6. Bernard K, Ritzel G, Steiner KU. Über eine biologische bedeutung der gallenfarbstoffe: Bilirubin und biliverdin als antioxydantien für das vitamin A und die essentiellen Fettsäuren. *Helv Chim Acta* 1954; 37: 306–313.
7. Stocker R, Yamamoto Y, McDonagh AF et al. Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance. *Science* 1987; 235: 1043–1046.
8. Wu TW, Fung KP, Yang CC. Unconjugated bilirubin inhibits the oxidation of human low density lipoprotein better than Trolox. *Life Sci* 1994; 54: 477–481.
9. Frei B, Stocker R, Ames BN. Antioxidant defenses and lipid peroxidation in human blood

plasma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 9748–9752.

10. Mazzone GL, Rigato I, Ostrow JD et al. Bilirubin inhibits the TNFalpha-related induction of three endothelial adhesion molecules. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 386: 338–344.
11. Tapan S, Dogru T, Tasci I et al. Soluble CD40 ligand and soluble P-selectin levels in Gilbert's syndrome: a link to protection against atherosclerosis? *Clin Biochem* 2009; 42: 791–795.
12. Basiglio CL, Arriaga SM, Pelusa F et al. Complement activation and disease: protective effects of hyperbilirubinaemia. *Clin Sci (Lond)* 2010; 118: 99–113.
13. Hwang HJ, Lee SW, Kim SH. Relationship between bilirubin and C-reactive protein. *Clin Chem Lab Med* 2011; 49: 1823–1828.
14. Yoshino S, Hamasaki S, Ishida S et al. Relationship between bilirubin concentration, coronary endothelial function, and inflammatory stress in overweight patients. *J Atheroscler Thromb* 2011; 18: 403–412.
15. Vitek L, Malikova I, Kvasnicka J et al. Relationship between serum bilirubin and markers of inflammation and oxidative stress. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: A235.
16. Rocuts F, Zhang X, Yan J et al. Bilirubin promotes de novo generation of T regulatory cells. *Cell Transplant* 2010; 19: 443–451.
17. Schwertner HA, Jackson WG, Tolan G. Association of low serum concentration of bilirubin with increased risk of coronary artery disease. *Clin Chem* 1994; 40: 18–23.
18. Vitek L, Jirsa M, Brodanova M et al. Gilbert syndrome and ischemic heart disease: a protective effect of elevated bilirubin levels. *Atherosclerosis* 2002; 160: 449–456.
19. Vitek L, Novotny L, Sperl M et al. The inverse association of elevated serum bilirubin levels with subclinical carotid atherosclerosis. *Cerebrovasc Dis* 2006; 21: 408–414.
20. Ajja R, Lee DC, Sui X et al. Usefulness of serum bilirubin and cardiorespiratory fitness as predictors of mortality in men. *Am J Cardiol* 2011; 108: 1438–1442.
21. Ko GT, Chan JC, Woo J et al. Serum bilirubin and cardiovascular risk factors in a Chinese population. *J Cardiovasc Risk* 1996; 3: 459–463.
22. Inoguchi T, Sasaki S, Kobayashi K et al. Relationship between Gilbert syndrome and prevalence of vascular complications in patients with diabetes. *JAMA* 2007; 298: 1398–1400.
23. Fukui M, Tanaka M, Yamazaki M et al. Low serum bilirubin concentration in haemodialysis patients with Type 2 diabetes. *Diabet Med* 2011; 28: 96–99.
24. Cheriya P, Gorrepati VS, Peters I et al. High total bilirubin as a protective factor for diabetes mellitus: an analysis of NHANES data from 1999–2006. *J Clin Med Res* 2010; 2: 201–206.
25. Lin LY, Kuo HK, Hwang JJ et al. Serum bilirubin is inversely associated with insulin resistance and metabolic syndrome among children and adolescents. *Atherosclerosis* 2009; 203: 563–568.
26. Wu Y, Li M, Xu M et al. Low serum total bilirubin concentrations are associated with increased prevalence of metabolic syndrome in Chinese. *J Diabetes* 2011; 3: 217–224.
27. Kwon KM, Kam JH, Kim MY et al. Inverse association between total bilirubin and metabolic syndrome in rural Korean women. *J Womens Health* 2011; 20: 963–969.

28. Choi SH, Yun KE, Choi HJ. Relationships between serum total bilirubin levels and metabolic syndrome in Korean adults. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2013; 23: 31–37.
29. Bhuiyan AR, Srinivasan SR, Chen W et al. Association of serum bilirubin with pulsatile arterial function in asymptomatic young adults: the Bogalusa Heart Study. *Metabolism* 2008; 57: 612–616.
30. Andersson C, Weeke P, Fosbøl EL et al. Acute effect of weight loss on levels of total bilirubin in obese, cardiovascular high-risk patients: an analysis from the lead-in period of the Sibutramine Cardiovascular Outcome trial. *Metabolism* 2009; 58: 1109–1115.
31. Zucker SD, Horn PS, Sherman KE. Serum bilirubin levels in the US population: gender effect and inverse correlation with colorectal cancer. *Hepatology* 2004; 40: 827–835.
32. Jiraskova A, Novotny J, Novotny L et al. Association of serum bilirubin and promoter variations in HMOX1 and UGT1A1 genes with sporadic colorectal cancer. *Int J Cancer* 2012; 131: 1549–1555.
33. Temme EH, Zhang J, Schouten EG et al. Serum bilirubin and 10-year mortality risk in a Belgian population. *Cancer Causes Control* 2001; 12: 887–894.
34. Vitek L, Muchova L, Jancova E et al. Association of systemic lupus erythematosus with low serum bilirubin levels. *Scand J Rheumatol* 2010; 39: 480–484.
35. Ilzecka J, Stelmasiak Z. Serum bilirubin concentration in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Clin Neurol Neurosurg* 2003; 105: 237–240.
36. Vitek L, Novotna M, Lenicek M et al. Serum bilirubin levels and UGT1A1 promoter variations in patients with schizophrenia. *Psychiatry Res* 2010; 178: 449–450.
37. McCarty MF. „Iatrogenic Gilbert syndrome“ – a strategy for reducing vascular and cancer risk by increasing plasma unconjugated bilirubin. *Med Hypotheses* 2007; 69: 974–994.

prof. MUDr. Libor Vitek, Ph.D., MBA
www.vfn.cz
e-mail: vitek@cesnet.cz

Doručeno do redakce: 6. 5. 2013