

**A HDL FUNKCIÓ ÉS SZERKEZET VÁLTOZÁSAI
LIPIDCSÖKKENTŐ KEZELÉS ÉS EGYES GENETIKAI
TÉNYEZŐK HATÁSÁRA HYPERLIPIDAEMIÁS
BETEGEKBEN**

MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS

DR. HARANGI MARIANN



DEBRECENI EGYETEM ÁLTALÁNOS ORVOSTUDOMÁNYI KAR
BELGYÓGYÁSZATI INTÉZET
ANYAGCSERE BETEGSÉGEK TANSZÉK
DEBRECEN, 2020

ELŐSZÓ

1998-ban nappali tagozatos PhD hallgatóként csatlakoztam a Paragh György Professzor Úr vezette lipidológiai munkacsoporthoz, mely akkor már évtizedek óta a lipidanyagcsere primer és szekunder betegségeivel foglalkozott. A párhuzamosan futó gyógyító és kutatómunka jól kiegészítette egymást, és a klinika Kutató Laboratóriuma biztos háttérrel nyújtott a betegellátás során felvetődött kérdések tisztázásához. A Regensburgi Egyetem Klinikai Kémiai Intézetében, Gerd Schmitz Professzor úr vezetésével töltött egy éves kutatómunkám során a Molekuláris Biológiai munkacsoport tagjaként olyan ritka veleszületett lipidanyagcsere zavarok genetikai hátterébe nyertem betekintést, mint a lecitin koleszterin aciltranszferáz deficiencia (Fish-eye disease) vagy a Tangier betegség. A klasszikus Sanger génszekvenálási és az akkor újdonságnak számító real-time PCR módszerek megismerése a későbbi munkám során is hasznosnak bizonyult, és érdeklődésem a veleszületett koleszterin anyagcsere betegségek iránt azóta is töretlen. A PhD fokozat megszerzését követően folytattam a korábban elkezdett kutatásokat, és egyre nagyobb számú beteggel találkoztam klinikánk Lipid szakrendelésén. A látott eltérések diagnosztikája gyakran túllépett a rutin laboratóriumi módszereken, ezért szoros együttműködést alakítottam ki kollégáimmal a Debreceni Egyetem Laboratóriumi Medicina Intézetének Klinikai Genetikai munkacsoportjával, mely azóta önálló Tanszékként működik. Ezen együttműködés segítségével sikerült hatékony módon diagnosztizálni a familiáris hypercholesterinaemia különböző genetikai hátterű formáit, vagy a Kutató Laboratóriumunkban bevezetett cholestanol mérés segítségével, genetikai vizsgálatokkal történő kiegészítéssel a cerebrotendinosus xanthomatosis. A nagydózisú, kombinált orális lipidcsökkentő kezelésre nem megfelelően reagáló, súlyos familiáris hypercholesterinaemiás betegek ellátásában, az országban másodikként bevezettem a szelektív LDL aferezis kezelést, melynek során újabb tudományos kérdések merültek fel. Emellett számos szekunder hyperlipidaemiás betegcsoport (krónikus vesebetegek, elhízottak, szisztémás autoimmun betegségben szenvedők és cukorbeteg) bevonásával végeztünk vizsgálatokat, döntően a high-density lipoprotein funkció és a gyulladásos markerek szerepét vizsgálva az érlemezés kialakulásában. Az utóbbi években a munkánk kiegészült a hormonszerű fehérjék (adipokinek, hepatokinek és enterokinek) szerepének vizsgálatával a lipidanyagcsere gyakorolt hatásuk tisztázása céljából. Az eltelt több mint két évtized munkája során megértettem, hogy a kutatás csapatmunka. Az

együttműködő betegek mellett a klinikusok és a laboratóriumban dolgozó biológus, vegyész, molekuláris biológus és fizikus kollégák, valamint a PhD és tudományos diákköri hallgatók közreműködése elengedhetetlenül szükséges. Bár az említett területek mindegyike fontos a számomra, a disszertációm a hyperlipidaemiás betegek atorvastatin, ezetimib és LDL aferezis kezelés során tett megfigyeléseinkre és kutatási eredményeinkre fókuszál, kiemelve a klinikum és a kutatás szoros kapcsolatát és a kutatási eredmények lehetséges hasznát a mindennapi betegellátásban.

TARTALOMJEGYZÉK

Rövidítések jegyzéke	8
1. Bevezetés	11
1.1. A lipidanyagcsere zavarainak jelentősége az érlemeszesedés kialakulásában.	11
1.2. A HDL szint és funkció jelentősége az érlemeszesedés kialakulásának gátlásában.	12
1.2.1. A HDL-C szint jelentősége	12
1.2.2. A HDL összetétel és funkció jelentősége	13
1.2.3. A HDL összetétel és funkció jelentősége	26
1.2.4. Hormonhatású bioaktív fehérjék hatása a HDL és a HDL szubfrakciók szintjére	29
1.3. A lipidcsökkentő kezelések haszna	31
1.3.1. Statinok	32
1.3.2. Ezetimib	34
1.3.3. Szelektív LDL aferezis	36
1.4. A lipidanyagcserét és a lipidcsökkentő kezelés hatékonyságát befolyásoló genetikai tényezők jelentősége	40
1.4.1. Apolipoprotein E polimorfizmus	40
1.4.2. Niemann –Pick C1-Like 1 polimorfizmus	42
2. Célkitűzések	44
3. Betegek és módszerek	45
3.1. Betegek kiválasztása	45
3.1.1. Az 55 év alatti carotis szűkületben szenvedő betegek és kontrollok kiválasztása	45
3.1.2. Túlsúlyos és elhízott, lipidcsökkentővel nem kezelt betegek kiválasztása	45
3.1.3. Fredrickson IIa és IIb típusú hyperlipidaemiás betegek és a kontroll csoport kiválasztása	46
3.1.4. Statin intoleráns betegek kiválasztása	47
3.1.5. A súlyos heterozigóta familiáris hypercholesterinaemiás betegek kiválasztása	47
3.2. Vértétel és laboratóriumi paraméterek mérése	48
3.2.1. Vértétel az 55 év alatti arteria carotis szűkületben szenvedő betegek esetén	48
3.2.2. Túlsúlyos és elhízott, lipidcsökkentővel nem kezelt betegek esetében a vérvétel és a laboratóriumi paraméterek mérése	48
3.2.3. Statin intoleráns betegek esetében a vérvétel és a laboratóriumi paraméterek mérése	48
3.3. A lipidparaméterek meghatározása	49

3.4. Az egyéb rutin laboratóriumi paraméterek meghatározása	49
3.5. Paraoxonáz-1 aktivitás mérése	49
3.6. A paraoxonáz-1 fenotípus meghatározása kettős szubsztrát módszerrel	50
3.7. Az LCAT és a CETP aktivitás mérése	50
3.8. Enzim-kapcsolt immunszorbens vizsgálatok	51
3.9. Fehérje frakció poszt LDL-aferezis elúciója DALI 750 adszorbens oszlopról és chemerin szint meghatározás az eluátumból	51
3.10. NO meghatározás	52
3.11. TBARS meghatározás	52
3.12. Plazma α - és γ - tokoferol szint meghatározása	52
3.13. Lymphocytá szeparálás perifériás vérből	53
3.14. Single cell gel electrophoresis (comet-assay)	54
3.15. HDL szubfrakció meghatározás poliakrilamid gradiens gél elektroforézis alkalmazásával	54.
3.16. LDL-méret meghatározás poliakrilamid gradiens gél elektroforézis alkalmazásával	55
3.17. LDL szubfrakciók elválasztása Lipoprint módszerrel	55
3.18. HDL szubfrakció meghatározás Lipoprint módszerrel	56
3.19. Az ApoE gén E2, E3, E4 polimorfizmusának meghatározása	56
3.20. A NPC1L1 genotípus meghatározás	57
3.21. Carotis ultrahang vizsgálatok	57
3.3. Statisztikai vizsgálatok	58
3.3.1. Statisztikai vizsgálatok az 55 évnél fiatalabb arteria carotis szűkületben szenvedő betegek vizsgálata kapcsán	58
3.3.2. Túlsúlyos és elhízott, lipidcsökkentővel nem kezelt betegek statisztikai elemzése	58
3.3.3. Az atorvastatin kezelésben részesülő hyperlipidaemiás betegek statisztikai elemzése	58
3.3.4. Statin intoleráns betegek statisztikai elemzése	59
3.3.5. Statisztikai elemzés a szelektív LDL aferezis kezelés során történt vizsgálatokban	59
4. Eredmények	60
4.1. A paraoxonáz aktivitás összefüggése egyes, az érlemeszesedés kialakulásában szerepet játszó tényezőkkel	60
4.1.1. A paraoxonáz aktivitás és az artéria carotis intima-méda vastagság összefüggése	60
4.1.2. A szérum mieloperoxidáz szint és a paraoxonáz aktivitás közötti összefüggés vizsgálata	63

4.1.3. A szérumbioloperoxidáz szint, a paraoxonáz aktivitás és egyes vaszkuláris biomarkerek szintje közötti összefüggés vizsgálata	69
4.1.4. A szérumbioloperoxidáz szint, a paraoxonáz aktivitás és a HDL szubfrakciók közötti összefüggés vizsgálata	75
4.2. Az atorvastatin kezelés hatása a HDL funkciójára és összetételére	78
4.2.1. Az atorvastatin kezelés hatásának vizsgálata a PON1 aktivitásra és a Comet assay-vel detektált oxidatív DNS-károsodásra	78
4.2.2. Az atorvastatin kezelés hatásának vizsgálata a HDL szubfrakciókra és a HDL-hez kötött enzimek (PON1, LCAT és CETP) aktivitására	80
4.3. Az ezetimib kezelés hatékonyságát befolyásoló genetikai tényezők vizsgálata	85
4.3.1. Az ApoE génpolimorfizmus ezetimib monoterápia hatékonyságára gyakorolt hatásának vizsgálata statin intoleráns betegekben	85
4.3.2. A Niemann–Pick C1-Like 1 c.-133A>G polimorfizmus hatása az ezetimib monoterápia hatékonyságára	88
4.4. A szelektív LDL aferezis kezelés hatása a chemerin, afamin és E-vitamin szintekre, valamint a mennyiségi és minőségi lipidparaméterekre	94
4.4.1. A szelektív LDL aferezis kezelés hatása a lipoproteinek és a szérumbioloperoxidáz szintjére	94
4.4.2. A szelektív LDL aferezis kezelés hatása a szérumbiolfa és béta tokoferol, valamint afamin szintjére	98
5. Megbeszélés	104
5.1. A paraoxonáz aktivitás összefüggése egyes, az érrelmeszesedés kialakulásában szerepet játszó tényezőkkel	104
5.1.1 A paraoxonáz aktivitás és a carotis intima-média távolság közötti összefüggés	104
5.1.2. A paraoxonáz aktivitás összefüggése a bioloperoxidáz és a mátrix metalloproteáz-9 szintjével	105
5.1.3. A paraoxonáz aktivitás és a bioloperoxidáz szint összefüggése egyes vaszkuláris markerek szintjével	106
5.1.4. A HDL szubfrakciók és a HDL-hez kötött enzimek vizsgálata	108
5.2. Az atorvastatin kezelés hatása a HDL funkciójára és összetételére	110
5.2.1. Az atorvastatin kezelés hatásának vizsgálata a PON1 aktivitásra és a Comet assay-vel detektált oxidatív DNS-károsodásra	110
5.2.2. Az atorvastatin kezelés hatásának vizsgálata a HDL szubfrakciókra és a HDL-hez kötött enzimek (PON1, LCAT és CETP) aktivitására	112
5.3. Az ezetimib kezelés HDL szintre kifejtett hatékonyságát befolyásoló genetikai tényezők vizsgálata	114
5.3.1. Az ApoE génpolimorfizmus ezetimib monoterápia hatékonyságára gyakorolt hatásának vizsgálata statin intoleráns betegekben	115
5.3.2. A NPC1L1 génpolimorfizmusok ezetimib monoterápia hatékonyságára gyakorolt hatásának vizsgálata statin intoleráns betegekben	116
5.4. A szelektív LDL aferezis kezelés hatásának vizsgálata egyes biológiaiaktív fehérje szintekre súlyos heterozigóta familiáris hypercholesterinaemiás betegekben	117

5.4.1. A szelektív LDL aferezis kezelés hatásának vizsgálata a szérum chemerin szintekre súlyos heterozidóga familiáris hypercholesterinaemiás betegekben	117
5.4.2. A szelektív LDL aferezis kezelés hatásának vizsgálata a szérum afamin és E-vitamin szintekre	119
6. Új eredmények	122
7. Az eredmények gyakorlati jelentősége	124
8. Köszönetnyilvánítás	125
9. Publikációk	126
9.1. Az értekezést megalapozó in extenso közlemények	126
9.2. Egyetemi doktori (PhD fokozat) megszerzése utáni in extenso közlemények	129
9.3. Egyetemi doktori (PhD fokozat) megszerzése előtti in extenso közlemények	139
9.4. Nemzetközi kooperációban megjelent közlemények	142
9.5. Könyvfejezetek	143
10. Scientometria	144
11. Irodalomjegyzék	145

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

ABCA1	ATP-kötő kazetta protein A1
ABCG1	ATP-kötő kazetta protein G1
ABCG5/G8	ATP-kötő kazetta protein G5/G8
ACAT2	acetyl-koenzimA-acetyltranszferáz 2
anti-TNF-alfa	anti-tumor-nekrózis-faktor-alfa
Apo	apolipoprotein
ApoA	apolipoprotein A1
ApoB	apolipoprotein B
ApoE	apolipoprotein E
ApoJ	apolipoprotein J (clusterin)
ATP	adenozin trifoszfát
BMI	testtömeg index (body mass index)
bp	bázispár
CETP	koleszterin-észter transzfer protein
CK	kreatinin-kináz
CT	komputer tomográfia
DAMPs	danger associated molecular patterns
DNS	dezoxiribonukleinsav
EDTA	etiléndiamin-tetraecetsav
EKG	elektrokardiográfia
EL	endotheliális lipáz
eNOS	endotheliális nitrogén-monoxid szintetáz
FH	familiáris hypercholesterinaemia
FV	V-ös faktor
HbA1C	hemoglobin A1C
HeFH	heterozigóta familiáris hypercholesterinaemia
HDL	nagy sűrűségű lipoprotein (high density lipoprotein)
HDL-C	nagy sűrűségű lipoprotein-koleszterin (high density lipoproteincholesterol)
HL	hepatikus lipáz
HMG-CoA	3-hidroxi-3-metilglutaril-koenzim-A

hsCRP	magas-szenzitivitású C-reaktív protein
ICAM-1	intercelluláris adhéziós molekula-1
IDL	közepes sűrűségű lipoprotein (intermediate density lipoprotein)
IFCC	Nemzetközi Klinikai Kémiai Szövetség (International Federation of Clinical Chemistry)
LCAT	lecitin koleszterin aciltranszferáz
LDL	alacsony sűrűségű lipoprotein (low density lipoprotein)
LDL-C	alacsony sűrűségű lipoprotein-koleszterin (low density lipoprotein-cholesterol)
Lp(a)	lipoprotein(a)
LpAI	lipoprotein AI
LpAI:AI	lipoprotein AI:AI
mikroRNS	mikroribonukleinsav
MMP-9	mátrix metalloproteináz -9
MPO	mieloperoxidáz
NO	nitrogén-monoxid
NPC1L1	Niemann-Pick C1-like 1
NVSZ	vaszkuláris szövődményekkel nem rendelkező
PAF-AH	vérlemezke aktiváló faktor acetilhidroláz (platelet-activating factor acetylhydrolase)
p-ANCA	perinukleáris antineutrofil citoplazmatikus antitest
PCR	polimeráz lánc-reakció (polymerase chain reaction)
PCSK9	proprotein konvertáz-szubtilizin/kexin-9
PLTP	foszfolipid transzferfehérje
PON1	humán paraoxonáz-1
RBP	retinol binding protein
RCT	reverz koleszterin transzport
rHDL	rekombináns HDL
SAA	szérum amiloid A
SNP	egypontos nukleotid polimorfizmus (single nucleotide polymorphism)
SR-BI	scavenger receptor class B type I

sTSH	ultraszenzitív pajzsmirigy stimuláló hormon
TIMP -1	metalloproteináz szöveti inhibitor-1 (tissue inhibitor of metalloproteinase-1)
VCAM-1	vaszkuláris sejtadhéziós molekula-1
VLDL	nagyon alacsony sűrűségű lipoprotein (very low density lipoprotein)
VSZ	vaszkuláris szövődeményekkel rendelkező

1. BEVEZETÉS

1.1. A lipidanyagcsere zavarainak jelentősége az érrelmeszesedés kialakulásában

A kardiovaszkuláris megbetegedések napjainkban is a legfontosabb halálokok között szerepelnek hazánkban és világszerte, egyaránt [1]. A kórképek kialakulásának hátterében legtöbbször az érrelmeszesedés kialakulása áll. Ma már ismert, hogy az érrelmeszesedés kialakulása egy, az artériák falát érintő, évtizedekig tartó, komplex gyulladásos folyamat, melyben számos kóroki tényező játszik szerepet [2]. Az érrelmeszesedés egyik legfontosabb kockázati tényezője a kóros lipidanyagcsere [3], melynek részeként az egyes lipoprotein komponensek mennyiségében és minőségében/funkciójában jelentős változások mutathatók ki [4]. Az érrelmeszesedés szempontjából a legnagyobb súlyú lipid kockázati tényező a low-density lipoprotein koleszterin (LDL-C) szérumszintjének emelkedése, de az összkoleszterin szint, az apolipoprotein B (ApoB100), a lipoprotein (a) (Lp(a)) és az ún. non-HDL koleszterin szintjének emelkedése szintén növeli a szív- és érrendszeri megbetegedések kialakulásának esélyét [5]. A high-density lipoprotein (HDL) részecske ezzel szemben védő hatású az érrelmeszesedés kialakulása szempontjából, és a HDL-koleszterin (HDL-C) alacsony szintje szintén hajlamosíthat szív- és érrendszeri betegségekre kialakulására [6]. Fontos hangsúlyozni, hogy az egyes lipoprotein komponensek heterogének, mivel az ezeket alkotó lipoprotein részecskék méretükben, töltésükben, lipid- és fehérje összetételükben jelentős különbségeket mutathatnak [7]. Az utóbbi évtizedek kutatási eredményei rávilágítottak arra, hogy az egyes lipoprotein komponensek minőségi változásai, melyek érinthetik a lipoprotein részecskék lipid és fehérje komponenseit, és a lipoproteinhez asszociált enzimek működését, legalább akkora jelentőséggel bírhatnak, mint a mennyiségi eltérések [8].

A lipidanyagcsere zavarainak hátterében részben primer okok: döntően a lipidanyagcserében szerepet játszó enzimek, strukturális és receptor fehérjék génjeiben kialakuló mutációk és polimorfizmusok állnak, melyek akár már születéstől fogva kóros lipidszinteket és megváltozott terápiás választ eredményeznek és ezáltal korai érrelmeszesedés kialakulásához vezethetnek [9].

A lipidanyagcsere zavarai kialakulhatnak szekunder módon is, mivel számtalan kórkép vezet másodlagosan kóros lipidanyagcsere kialakulásához. A népbetegségnek számító

elhízás és túlsúly, az 1-es és 2-es típusú diabetes mellitus, a krónikus vesebetegség, a szisztémás autoimmun betegségek jellegzetes lipidanyagcsere eltérésekkel társulnak, melyek hozzájárulnak az e betegségek esetén észlelt fokozott kardiovaszkuláris kockázat kialakulásához [10]. Természetesen előfordulhat, hogy a primer eltérésre szekunder módon rakódik rá egy újabb lipidanyagcsere probléma, bonyolítva az egyébként sem egyszerű nomenklatúrát.

1.2 A HDL szint és funkció jelentősége az érlelmeszesedés kialakulásának gátlásában

Talán a HDL esetében a leginkább nyilvánvaló, hogy a megfelelő szérumb szint nem jelent megfelelő funkciót is egyben. A HDL-lel kapcsolatos kutatások sokáig csak a HDL részecskék mennyiségi meghatározására fókuszáltak, és csak az utóbbi évtizedekben igazolódott a funkcionális eltérések jelentősége az érlelmeszesedés kialakulásában.

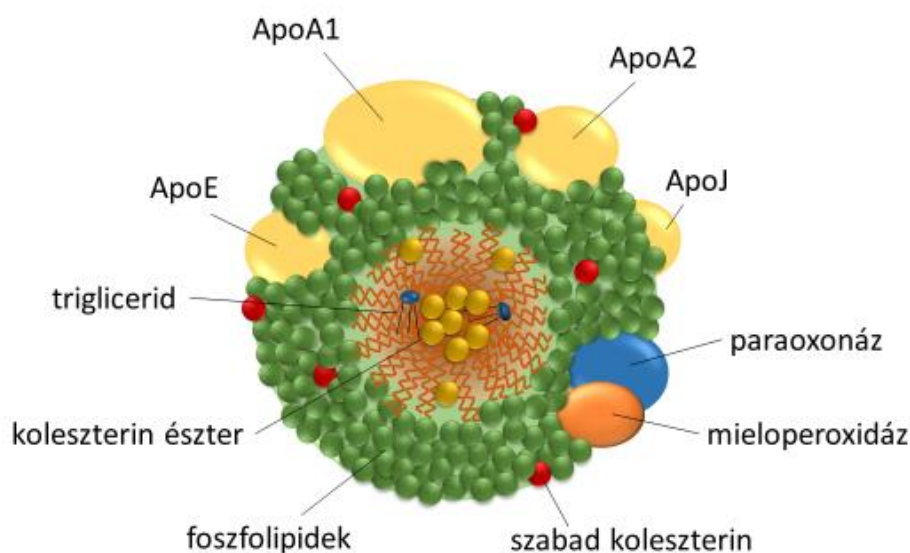
1.2.1. A HDL-C szint jelentősége

A Framingham Heart Study bizonyította első alkalommal, hogy a HDL-C szint és a szív- és a kardiovaszkuláris megbetegedések kialakulása között negatív korreláció mutatható ki [6]. Ezt később több tanulmány és metaanalízis is alátámasztotta [5, 11, 12]. Mégis, a HDL-C szint emelését célzó kezelések alkalmazásával sokáig nem sikerült csökkenteni a kardiovaszkuláris események kialakulásának esélyét. A fibrátok, a niacin és a koleszterin-észter transzfer protein (CETP) gátló torcetrapib és dalcetrapib bár emelte a HDL-C szintet, a remélt kedvező klinikai hatás rendre elmaradt [13-16]. Érdekes módon a HDL fő apolipoproteinje: az apolipoprotein A1 (ApoA1) kóros működésével, és emiatt a HDL-C alacsony szérumszintjével járó apoA1 Milano mutációt hordozók esetében sem észleltek emelkedett kardiovaszkuláris kockázatot. A nemrég publikált REVEAL vizsgálat, melyben egy másik CETP gátlót: az anacetrapibot alkalmazták, végre pozitív eredménnyel zárult. Az átlagosan 4,1 éves követési időszak során az anacetrapibbal kezelt csoportban a HDL-C szint jelentősen, 104%-kal nőtt, miközben szignifikánsan, 9%-kal csökkent a primer végpontok kockázata a placebo csoporthoz képest [17]. Igaz, az elemzések alapján a tapasztalt kardiovaszkuláris haszon hátterében nem feltétlenül a HDL-C szint emelkedése, hanem az ezzel párhuzamos LDL-C és non-HDL-C szint csökkenés állhatott. Mindez arra utal, hogy a HDL-C mérése önmagában nem elegendő, és a HDL-C emelése sem jelent feltétlenül védelmet az érlelmeszesedés és a

kardiovaszkuláris események kialakulásával szemben. Ezért az utóbbi évtizedekben intenzív kutatások zajlottak a HDL funkciójának, összetételének és szerkezetének vizsgálata terén [18].

1.2.2. A HDL összetétel és funkció jelentősége

A HDL-t, vagy korábbi nevezéktan szerint lipid-gazdag alfa globulint a párizsi Pasteur intézetben Michel Macheboeuf izolálta elsőként 1929-ben [19]. A HDL fehérjében gazdag, nagy sűrűségű, kisméretű lipoprotein részecske, melynek átlagos sűrűsége 1,063-1,21 g/mL, mérete 8-10 nm. A hidrofíl külső burok, melyet főként foszfatidilkolin, koleszterin és apolipoproteinek alkotnak, egy hidrofób magot vesz körbe, mely főként trigliceridet és koleszterin-észtert tartalmaz [20] (**1. ábra**).



1.ábra. A HDL részecske felépítése

A HDL részecskék ugyanakkor számos egyéb mikro- és makromolekulát tartalmaznak, mely miatt igen heterogének. Mind fehérjetartalmuk, mind lipidtartalmuk igen változatos. A lipidtartalom kb. 25%-ban foszfolipid, kb. 12%-ban koleszterin-észter, kb. 4 %-ban szabad koleszterin és kb. 3%-ban triglicerid, de az eltérés egyes szubfrakciókban jelentős lehet, és számos egyéb foszfolipid, például foszfatidil-etanolamin, foszfatidil-szerin és szfingomielin is biztosítja a HDL struktúráját, hozzájárulva a funkcióhoz is [21, 22].

A fehérjetartalom a többi lipoprotein részecskéhez viszonyítva magas, és igen változatos: a HDL részecskékben több mint 200 fehérjét azonosítottak. A szerkezet stabilitása és a lipid transzport szempontjából kulcsfontosságúak az apolipoproteinek. Legnagyobb arányban, kb. 65%-ban az apolipoprotein A1 (ApoA1) és kb. 15%-ban az apolipoprotein A2 (ApoA2) van jelen, de emellett apolipoprotein A4, A5, C1, C2, C3, D, E, F, H, J, L és M is kimutatható. Számos apolipoprotein vizes közegben oldható, lipid szegény állapotban is létezik, így a keringésben képes a lipoprotein részecskék között vándorolni [22]. Az ApoA1 a HDL fő apolipoproteinje. 243 aminosav alkotja, és az alfa-helikális szerkezet által megvalósuló szerkezet-stabilizáló hatása mellett antioxidáns, gyulladáscsökkentő és ezáltal érlelmeszesedést gátló hatással rendelkezik. Emellett az ATP-kötő kazetta protein A1 (ABCA1) mediálta reverz koleszterin transzporthoz is elengedhetetlen, valamint a lecitin-koleszterin acitranszferáz (LCAT) enzim fő aktivátora.

A legfontosabb HDL-hez kötődő fehérjéket a **1. táblázat** foglalja össze. Egyes fehérjekomponensek több funkciós csoportba is besorolhatóak, és jelenlétük /arányuk az egyes HDL szubfrakciókban jelentős eltéréseket mutat.

1. táblázat. A HDL részecske legfontosabb fehérjei funkciójuk alapján

funkciós csoport	fehérjék
struktúrfehérjék - apolipoproteinek	A1, A2, A4, A5, C1, C2, C3, D, E, F, H, J, L, M
hemosztázisban résztvevő fehérjék	fibrinogén, antitrombin III, plazminogén, protrombin, kallikrein, serpin G1, D1
az immunválaszban résztvevő fehérjék	SAA, α -2 antiplasmin, LPS binding protein, fibronectin komplement 1S, C2, C3, C9, 4B, B, H,
vitamin transzporterek	afamin (E vitamin), D vitamin kötő fehérje, RBP (retinol), albumin, transztiretin
lipoprotein metabolizmusban résztvevő enzimek	LCAT, PLTP, CETP

**oxidatív folyamatokban
résztevő fehérjék**

PON1, MPO, glutation peroxidáz. PAFAH

CETP: koleszterin-észter transzfer protein; LCAT: lecitin-koleszterin aciltranszferáz; LPS: lipopoliszaharid; MPO: mieloperoxidáz; PAFAH: vérlemezke aktiváló faktor acetilhidroláz; PLTP: foszfolipid transzferfehérje; PON1: humán paraoxonáz-1; RBP: retinol binding protein; SAA: szérum amiloid-A

A HDL érlelmeszesedést gátló hatásáért számos, egymástól csak részben elválasztható tulajdonsága felelős (**2. táblázat**).

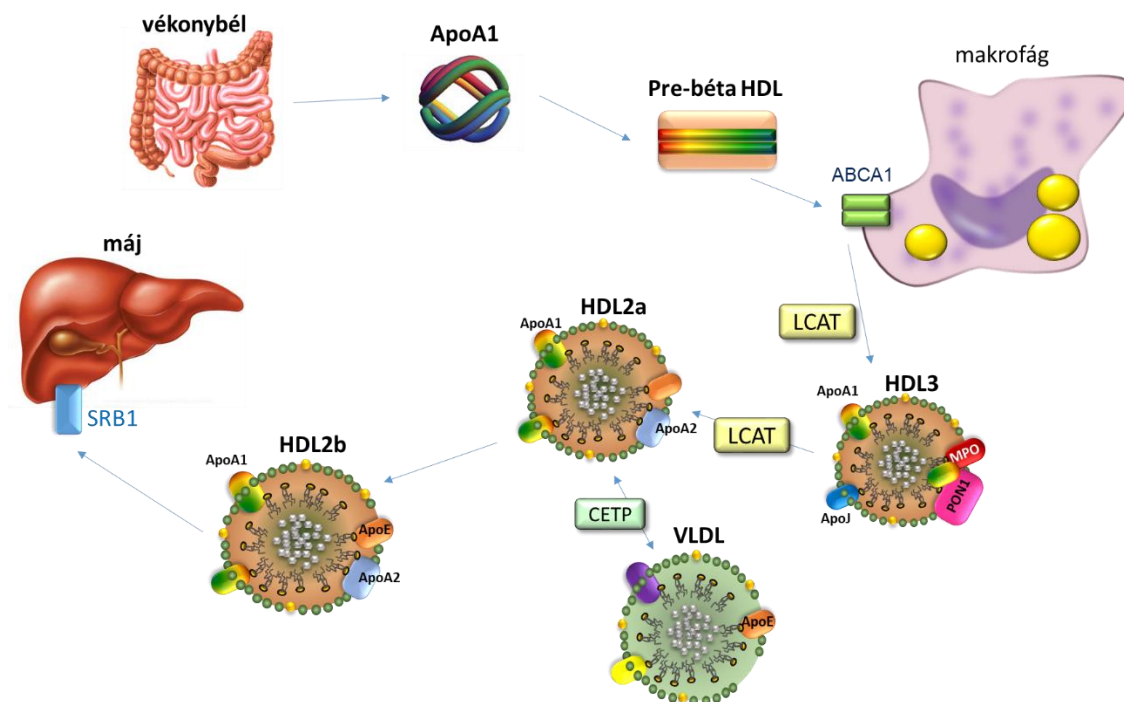
2. táblázat. A HDL érlelmeszesedést gátló hatásának legfontosabb elemei

hatás	magyarázata
reverz koleszterin transzport	A HDL koleszterint juttat vissza a perifériás sejtekből, köztük az érfali makrofágokból a májba, ahol az részben az epével kiürül
antioxidáns	A HDL felszínén található apolipoprotein A1, paraoxonáz és PAFAH enzimek antioxidáns hatással rendelkeznek, a szabad gyökök mennyiségének csökkentésével gátolják a lipid peroxidációt
anti-thrombotikus	A HDL gátolja a vérlemezke aktivációt, a szöveti faktor expressziót az endothel sejtekben, valamint gátolja az V faktor aktivációt
endothel funkció javítás	A HDL csökkenti az endothel sejtek felszínén a VCAM-1 és ICAM-1 expressziót, a makrofágokban a MCF-1 expressziót és fokozza a NOS általi NO termelést
anti-inflammatorikus	A PON1 csökkenti a monociták érfali kemotaxisát és gátolja a monocita-makrofág differenciációt
anti-apoptotikus	A PON1 gátolja az endothel sejtek TNF α indukált apoptózist
anti-infektív	A PON1 laktonáz aktivitással rendelkezik, mely bakteriális virulencia faktorok semlegesítéséhez szükséges, ezáltal a természetes immunitás részét képezi

Minél többet tudunk a HDL részecskét alkotó vagy annak felszínéhez kapcsolódó fehérje és nem fehérje természetű molekulákról, annál nyilvánvalóbbá válik, hogy a HDL kulcsszereplő az egyéb lipoproteinek metabolizmusa mellett a gyulladásos, véralvadási és autoimmun folyamatok szabályozásában is. Ennek köszönhető komplex gátló hatása magára az érlelmeszesedésre, mely szintén több tényező: a gyulladás mellett oxidatív, infekatív és immunfolyamatok együttes hatásaként alakul ki.

A HDL részecske egyik legismertebb szerepe az ún. **reverz koleszterin transzportban** való részvétele, melynek során a HDL részecske a perifériás sejtekből koleszterint juttat vissza a májba. A folyamatot a **2. ábra** szemlélteti.

A folyamat első lépéseként a vékonybél által termelt lipidszegény ApoA1 a plazma membránból származó foszfolipidekkel és nem-észterifikált koleszterinnel diszkoid alakú naszcens pre-béta HDL1-et képez [23]. A perifériás sejtekből (makrofágok, májsejtek, bélhámsejtek) az ApoA1 segítségével az ABCA1 transzporterén keresztül a HDL részecske koleszterint vesz fel, mely nagyobb koleszterin tartalmú pre-béta HDL2-vé alakul. A főként ApoA1 által aktivált LCAT enzim hatására koleszterin tartalma koleszterin-észterre alakul, és fokozatos gömb alakú HDL3-má alakul át, melyhez további apolipoproteinek és egyéb enzimfehérjék kapcsolódnak [24]. Az LCAT hatására a méretben és koleszterin-észter tartalomban nagyobb HDL2a-vá alakul át. A HDL2a részecske a koleszterin-észter tartalmát a koleszterin-észter traszfer protein (CETP) segítségével egyéb lipoprotein, például VLDL részecskékkal trigliceridre cseréli [25]. A HDL további éréséhez hozzájárul még a foszfolipid transzfer fehérje (PLTP), mely egyéb lipoproteinekről foszfolipideket szállít a HDL-re, és a hepatikus lipáz (HL), mely triglicerid és a foszfolipidek hidrolíziséért felel. Mindezen folyamatok hatására kialakul a HDL2b, mely a májfelszínen expresszáldó SR-BI receptorhoz kötődve felvételre kerül a májba [26]. Koleszterin tartalma részben újra felhasználásra kerül, részben epesavakká bomlik, és az epével kiválasztódik, és egy része a széklettel távozik, másik része a bélhámsejtek felszínén található Niemann-Pick C1-like 1 (NPC1L1) receptorokon keresztül viasszaszívódik [27]. A máj által fel nem vett, lipidmentes vagy lipidszegény ApoA1 egy része a vesében a proximális tubulusokban a cubulin és megalin receptorokon felvételre kerül és filtráldik [28].



2. ábra. A reverz koleszterin transzport folyamata

ABCA1: ATP-kötő kazetta protein A1, ApoA1: apolipoprotein A1, ApoA2: apolipoprotein A2, ApoE: apolipoprotein E, ApoJ: apolipoprotein J, CETP: koleszterin-észter transzfer protein, HDL: high-density lipoprotein, LCAT: lecitin-koleszterin aciltranszferáz, SRB1: scavenger receptor B1, VLDL: very-low density lipoprotein

Az érlemezés kialakulása szempontjából az egyik leglényegesebb kezdeti lépés az LDL részecskék reaktív oxigén gyökök általi oxidációja, mivel az oxidált LDL (oxLDL) az endothel sejtek aktivációját, azok felszínén adhéziós molekulák megjelenését, az ICAM-1, a VCAM-1 és az E-szelektin expresszióját, valamint a makrofágok és leukocyták esetén a gyulladásos citokinek, az interleukin-1, 4 és 6, valamint a γ -interferon fokozott termelését váltja ki [29]. Az érfali intimába jutva az oxLDL-t a makrofágok scavenger receptorai veszik fel nagy mennyiségben, melynek hatására a makrofág habos sejtté alakul át. A folyamatos oxLDL felvétel hatására a sejtek végül programozott sejthalált szenvednek, a sejteken kívüli lipid megjelenését, ezáltal további gyulladásos folyamatok kialakulását idézve elő [30]. Az oxLDL emellett a prosztaglanin I₂ (PGI₂), plazminogén aktivátor inhibitor-1 (PAI-1), tromboxán A₂ (TxA₂) és trombin szintjének emelésén, valamint a nitrogén-monoxid (NO) és szöveti plazminogén aktivátor szintjének csökkentésén keresztül trombogén hatású [31]. Az LDL oxidációja valójában több

párhuzamos oxidációs lépés együttesének hatására jön létre, mivel mind a fehérje komponensek, elsősorban az LDL legfontosabb apolipoproteinje, az apolipoprotein B oxidatív károsodása, mind a lipid komponensek, például a részecske felszínére kerülő foszfatidilkolin oxidatív lépései megfigyelhetők, melyek ún. veszély asszociált molekuláris mintázatként (danger associated molecular patterns; DAMPs) az immunsejtek aktivációját idézik elő. Emellett az oxidáció-specifikus epitópokat a C-reaktív fehérje felismeri, és a kötődést követően komplement aktivációt és a természetes immunválasz részeként IgM típusú antitestek termelődését váltja ki [32]. Ezen oxLDL elleni antitestek megjelenésének jelentősége nem minden tekintetben tisztázott, Az oxidációs folyamatok gátlása tehát kulcsfontosságú az érlelmeszesedés kialakulásának gátlásában.

A HDL részecske antioxidáns hatással rendelkezik, melyért elsősorban a HDL-hez kötött fehérjék: maga az ApoA1, valamint enzimek: főként a **humán paraoxonáz-1 (PON1)**, a vérlemezke aktiváló faktor acetilhidroláz (platelet-activating factor acetylhydrolase; PAFAH) felelnek.

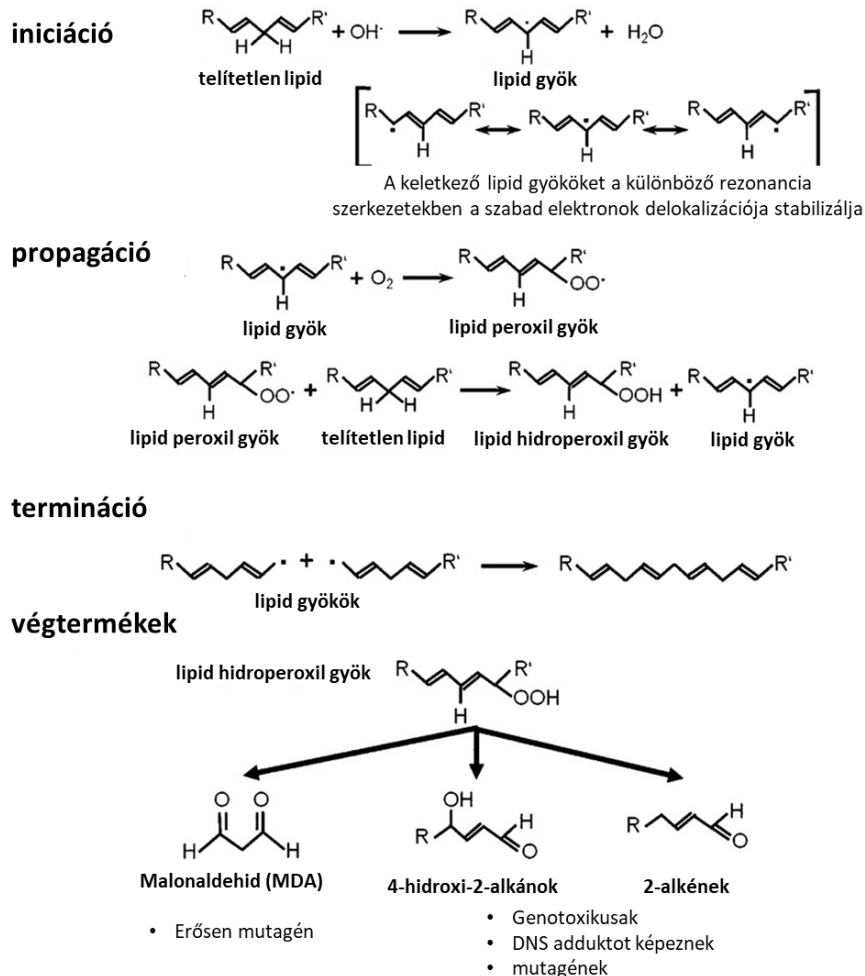
A PON1 egy túlnyomóan HDL-hez kötött, kalcium függő észteráz, melyet főként a máj, kisebb mennyiségben a vese és a vastagbél és számos további szerv termel [33]. A PON1 mellett az enzimsaládot a csak intracellulárisan előforduló PON2 és a PON3 enzim alkotja, az enzimfehérjéket kódoló gének mindegyike a 7-es kromoszómán helyezkedik el, és nagyfokú strukturális homológiát mutat [34]. A PON1-et a HDL szubfrakciókon belül főként a kicsi, denz HDL3 szubfrakció tartalmazza [35], illetve az apolipoprotein J (clusterin) tartalmú partikulumokban fordul elő [36]. Bár az ún. A-észterázt, mely a PON1 enzimmel azonos már 1953-ban azonosították [37], fiziológiás szubsztrátja a mai napig nem tisztázott. Az aktivitás mérésére használt paraoxon organofoszfátról kapta ugyan a nevét, és az enzimaktivitás mérésére máig ez a leggyakrabban alkalmazott szubsztrát, az enzim arileszteráz aktivitással és laktonáz aktivitással is rendelkezik [38]. A legelterjedtebb nézet szerint az eredeti funkciója éppen a laktonáz aktivitás, mely bakteriális virulencia faktorok semlegesítéséhez szükséges, ezáltal a természetes immunitás részét képezi [39]. A PON1 arileszteráz aktivitása erősen korrelál a szérum PON1 fehérje szinttel, míg a paraoxonáz aktivitás az enzim antioxidáns képességét jellemzi [40]. A PON1 aktivitást egyes génpolimorfizmusok jelentősen befolyásolhatják.

A számtalan egy nukleotidot érintő polimorfizmusból nyolcat a promóter régióban, míg 176-ot a kódoló szakaszban írtak le [41]. Ezek közül a legfontosabb a Gln₁₉₂->Arg (Q192R), melynek hatása szubsztrátfüggő. A 192-es pozícióban a glutamin (Q alloenzim) gyorsabban hidrolizálja a diazoxont, a sarint és egyéb ideggázokat, míg az arginin jelenléte (R alloenzim) nagyobb affinitást mutat a paraoxon és a feniroxon iránt, ugyanakkor a fenilacetátot mindkét alloenzim hasonló sebességgel bontja. Ezért a 192-es pozícióban a glutamin alacsony paraoxonáz aktivitást, míg az arginin magas, átlagosan nyolcszor nagyobb paraoxonáz aktivitást eredményez. [42] A polimorfizmus szubsztrátfüggő tulajdonsága teszi lehetővé a fenotípus meghatározást a paraoxonáz és arileszteráz aktivitásának hányadosát alkalmazva (kettős szubsztrát módszer) [43]. A PON1 az oxidált foszfolipidek hidrolízisén keresztül képes gátolni az LDL részecske oxidációját [44], valamint fokozza a monociták és makrofágok szabadgyökök elleni védekezőképességét [45] és elősegíti a makrofágok általi ABCA1-mediált reverz koleszterin transzportot [46]. A PON1 emellett csökkenti a monociták érfaali kemotaxisát [47] és gátolja a monocita-makrofág differenciációt [48]. A PON1 tehát számos ponton képes gátolni az érlemezsedés kialakulását, melyet az is bizonyít, hogy a PON1 knockout egerekben az érlemezsedéses plakkok kialakulása fokozott és HDL részecskéik LDL oxidációt gátló kapacitása csökkent [49, 50]. Ezzel szemben a PON1 fokozott termelése transzgén egerekben véd az oxidatív stressz és az érlemezsedés kialakulásával szemben [51]. A PON1 aktivitás csökken az életkor előrehaladtával [52], az elhízással, a dohányzás és rendszeres alkoholfogyasztás hatására [53, 54]. Aktivitása emellett csökkent számos olyan kórképben, melyben az érlemezsedés kialakulására fokozott a kockázat, például krónikus vesebetegségben és hyperlipidaemiában [55], 1-es és 2-es típusú diabetes mellitusban [56, 57] és elhízottakban [58]. A csökkent PON1 aktivitás prospektív vizsgálatokban a kardiovaszkuláris megbetegedések egyértelmű kockázati tényezőjének bizonyult [59, 60].

A **mieloperoxidáz (MPO)** egy monociták és neutrofil sejtek által termelt hemfehérje, mely a sejtek azurofil granulumaiban tárolódik. A sejtek aktivációja során az enzim reaktív oxigén gyököket termel, melyek baktericid hatásuk mellett fehérje-, lipid- és DNS-károsító hatást fejtenek ki [61, 62].

A **szabad gyökök** a szervezetben részben endogén módon (enzimatis és nem enzimatis folyamatok révén), részben exogén úton, külső ágensek (pld. ionizáló sugárzás) hatására keletkeznek. Közös jellemzőjük, hogy az atomok külső elektronhéján párosítatlan elektron található, mely miatt a szabad gyökök igen reaktívak, ezért általában rövid élettartamúak. Ide tartozik a szuperoxid anion ($O_2^{\cdot-}$) és a hidroxilgyök ($\cdot OH$). Tágabb értelemben szabad gyöknek szokás nevezni azokat a molekulákat is, melyek ugyan nem rendelkeznek párosítatlan elektronnal, de nagyon reaktívak, például a hidrogén-peroxid (H_2O_2) és a hipoklórossav ($HClO$). A szabad gyökök termelésében részt vesznek a mitokondriális elektrontranszportlánc enzimei: xantin-oxidáz, NADPH oxidáz, citokróom P450, nitrogén-monoxid szintetáz, ciklooxygenáz, lipoxigenáz és monooxygenáz enzimek. A szabadgyökök keletkezése fontos a kórokozók elleni védelemben és egyes jelátviteli folyamatokban. Az oxidatív és antioxidáns folyamatok egyensúlyának felbomlása, és a túlzott szabadgyök termelés azonban káros lehet.

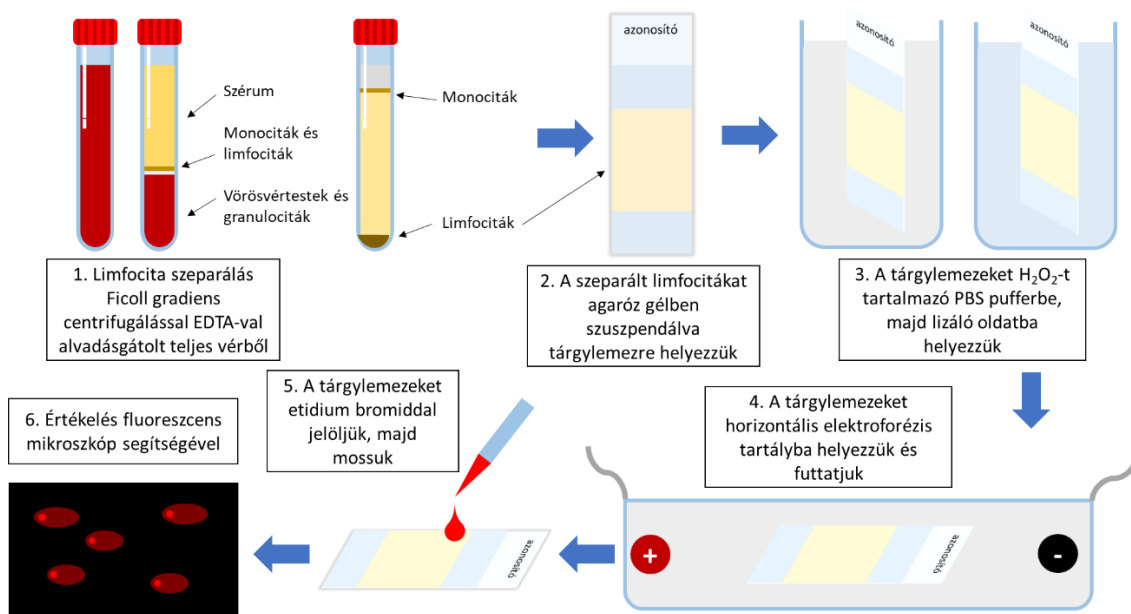
A szabad gyökök szerepe az érlelmeszesedés kialakulásában kiemelt, mivel az LDL oxidatív károsodása az atherogenezis első lépéseinek egyike. Az LDL zsírsavtartalmának jelentős részét alkotják a többszörösen telített zsírsavak, például az arachidonsav és a linolénsav, melyek peroxidációra hajlamosak. A lipid peroxidációja során a lipidek szabadgyökök, pld. $\cdot OH$ hidrogén-elvonással lipid szabadgyökké alakulnak (iniciáció), melyek az oxigénnel reakcióba lépve lipid peroxigyökké alakulnak. Ez a szomszédos oldalláncról hidrogént von el, melynek során lipid-hidroperoxid képződik (propagáció). A láncreakciót az antioxidáns rendszer aktivációja zárja le (termináció). A lipid-hidroperoxid lebontása során számos káros végtermék, köztük malonaldehid (MDA), 4-hidroxi alkánok és 2-alkének keletkeznek, melyek DNS fragmentációt, DNS kereszkötések és adduktok kialakulását okozhatják, ezáltal mutagének (**3. ábra**) [63].



3. ábra. A szabad gyökök általi lipid peroxidáció
(Henkel és mtsai módosított ábrája) [63]

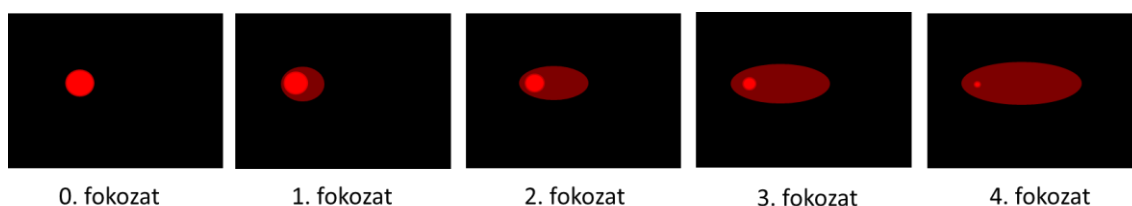
A DNS károsodásának detektálására alkalmazott módszerek egyike az ún. Comet assay, melyet főként a karcinogenezis, a toxikológia és a gerontológia területén használnak széles körben. Először 1978-ban írta le a sejtek agaróz gélbe történő ágyazásának és elektroforézisének módszerét Rydberg és Johanson [64], majd Singh 1988-ban alkalikus puffert alkalmazva érzékenyebbé tette a károsodás kimutatását, ami így alkalmassá vált a genotoxicitás vizsgálatára [65]. A módszer lényege, hogy izolált sejteket, például vérből kinyert limfocitákat agaróz gélbe ágyazunk, majd a mintát valamilyen vizsgált hatásnak, például hidrogén-peroxidnak, mint oxidáló ágensnek teszünk ki. Ezt követően a tárgylemezt horizontális elektroforetikus tartályban futtadjuk, a DNS-t valamilyen

fluoreszcens jelölő ágenssel, például etidium bromiddal jelöljük, majd a tárgylemezetket fluoreszcens mikroszkóppal értékeljük. (4. ábra)



4. ábra. A Comet assay legfontosabb lépései

A Comet assay során a DNS károsodásának mértékétől függően eltérő mértékben darabolódik és károsodik a sejtmag DNS lánc, ami a sejtmag kromatintartalmának csökkenéséhez és az üstököszerű képződmény méretének növekedéséhez vezet. Az értékelés során a károsodás mértékét egy 5 fokozatú skálán értékelhetjük, mely 0-tól 4-ig adott értékkel jellemzi a képződött üstökös méretét (5. ábra).



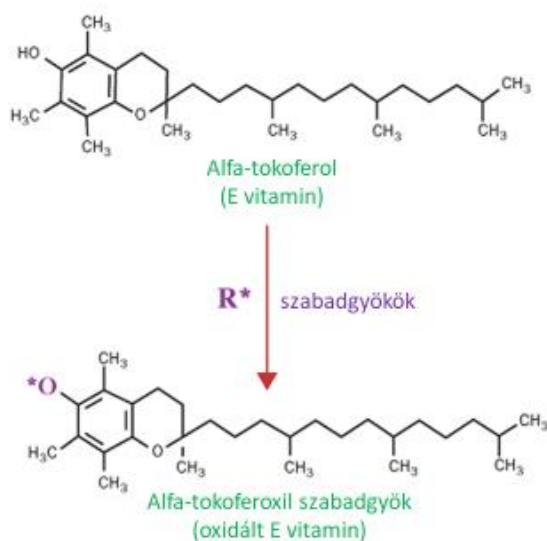
5. ábra. A Comet assay során észlelt eltérések értékelése

Az értékelés során ma már értékelő szoftverek is rendelkezésre állnak, melyek ugyanezen az elven végzik az értékelést, de jóval rövidebb idő alatt.

A fehérje oxidációt, fehérje-fehérje keresztkötéseket, aminosav oldallánc oxidációt és reaktív karbonil-származékok kialakulásáért elsősorban a H_2O_2 indukálta folyamatok

felelősek. A szabad gyökök okozta oxidatív károsodás elleni védelemben szerepet játszanak a lipoprotein részecskékhez kötött antioxidáns vitaminok és egyéb molekulák, például az alfa-tokoferol, a karotinoidok és az ubiquinol, valamint a glutation és redox rendszere, a szuperoxid dizmutáz, a kataláz és a kinon-oxidoreduktáz [66].

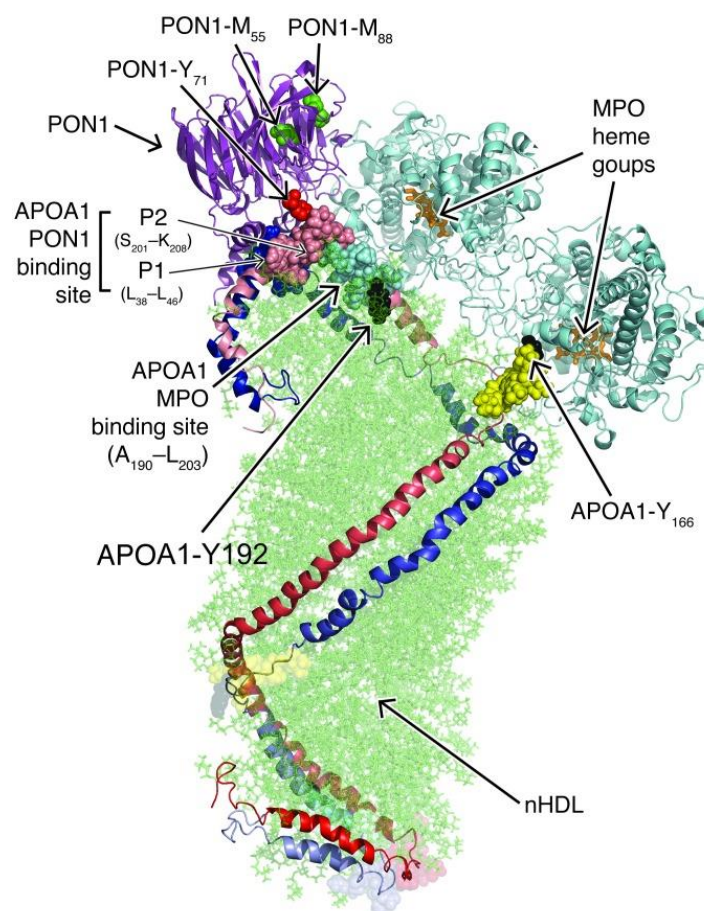
Az összefoglaló néven **E-vitaminnak** nevezett tokoferolok és tokotrienolok a leghatékonyabb exogén antioxidáns molekulák közé sorolhatók. Az összesen nyolc lipofil molekula a metilációs mintázat alapján α , β , γ és δ elnevezést kapott. Az emberi szervezetben legnagyobb mennyiségben az α -tokoferol fordul elő, melynek fő forrását a növényi olajok, például a mandula-, a magyoro-, az oliva- és a naprafogó olaj jelenti. Az E-vitamint 1922-ben írák le először a patkányok fertiliását befolyásoló faktorként [67]. Bár azóta számos biológiai folyamatban, többek között a lipid homeosztázisban, a gyulladásos folyamatokban, a sejtproliferáció és apoptózis folyamatában bizonyították a jelentőségét, a kardiovaszkuláris megbetegedések kialakulásában betöltött szerepe vitatott [68]. Az E-vitamin szabad gyökök, valamint a lipid peroxidok redukcióján keresztül hozzájárulhatnak az oxidált LDL kialakulásának gátlásához, így anti-atherogén hatást fejtenek ki (**6. ábra**). Az E-vitamin antioxidáns hatékonysága azonban nem kétséges, ezért annak ellenére, hogy a klinikai vizsgálatok még nem támasztották alá megfelelő módon a hatékonyságát, az érlemeszesedés gátlásában betöltött szerepe továbbra is kutatások tárgyát képezi [69].



6. ábra. Az α -tokoferol oxidációja a szabad gyökök által

A HDL-hez kötött enzimek közül a szabad gyökök fő forrását az MPO jelenti. Az MPO által termelt HClO, klóraminok, tirozil gyökök és nitrogén-dioxid (NO₂) erősen reaktív, mely a szervezetbe kerülő kórokozók, például baktériumok membránjának oxidációját, ezáltal a membrán károsodását, ezzel a kórokozó destrukcióját okozza. Az MPO enzim baktériumölő hatása a veleszületett immunitás részét képezi, és gátolja az adaptív T sejt-mediálta immunválaszt. Emellett elősegíti a további neutrofil és makrofág aktivációt, az érfa leukocita infiltrációt és az endothel sejtek aktivációját [70]. Ugyanakkor az LDL oxidáció révén fokozza a habos sejt képződést [71]. Az MPO az ApoA1 oxidatív módosítására is képes, melynek következtében károsodik az ABCA1-mediált reverz koleszterin transzport, és csökken a HDL anti-inflammatorikus és anti-apoptotikus hatékonysága [72, 73]. Az MPO tehát proatherogén, emelkedett szintje és a kardiovaszkuláris megbetegedések kockázata közötti összefüggés ismert [74, 75]

2013-ban igazolódott, hogy a PON1 és az MPO a HDL partikulum felszínén egymás közvetlen közelében helyezkednek el, hármas komplexet alkotva az ApoA1 fehérjével (7. *ábra*). A PON1 és az MPO egymás aktivitását kölcsönösen gátolja [76]. A két enzim hányadosa a HDL funkció egyik markere és a kardiovaszkuláris megbetegedések kockázatának prediktora [77].



7. ábra. A humán paraoxonáz-1, a mieloperoxidáz és HDL által alkotott funkcionális hármas komplex szerkeze [76].

PON1: humán paraoxonáz-1; MPO: mieloperoxidáz; APOA1: apolipoprotein A1

Egy másik proatherogén enzim, a **mátrix metalloproteáz-9 (MMP-9)** is képes komplexet képezni a HDL részecskével, különösen a HDL2-vel, a HDL funkciójának károsodását idézve elő [78]. A MMP-9 a cink-függő endopeptidázok közé tartozik [79]. A metalloproteázok az extracelluláris mátrix lebontásán keresztül hozzájárulnak a plakk destabilizációjához, ezáltal annak ruptúrájához, így a kardiovaszkuláris események kialakulásához [80]. A metalloproteáz szöveti gátlók (tissue inhibitor of metalloproteinase, TIMP) a metalloproteázokhoz kapcsolódva azok aktivitását képesek szabályozni [81]. Kardiovaszkuláris betegségekben emelkedett TIMP-1 szinteket találtak korábbi vizsgálatok [82, 83]. Az irodalmi adatok alapján a magas TIMP-1 a fokozott MMP aktivitásra adott kompenzatorikus válasz részeként alakulhat ki [84].

A HDL emellett képes gátolni az endothel sejtek felszínén az adhézións molekulák, köztük a vaszkuláris adhézións molekula-1 (VCAM-1) és intracelluláris adhézións molekula-1 (ICAM-1) expresszióját és az érfali makrofágok kemotaktikus faktor-1 termelését, ezáltal csökkenti a neutrofil granulocyták érfali infiltrációját és akkumulációját [85, 86]. Fokozza az endothel sejtek nitrogén-monoxid (NO) termelését a NO szintetáz (NOS) aktivitás emelésén keresztül [87]. Csökkenti az endothel sejtek szöveti faktor expresszióját, gátolja az V-ös faktor aktivációját és a thrombocyta aktivációt és aggregációt, ezáltal antithrombotikus hatást fejt ki [88]. Elősegíti az endothel sérülést követően aktiválódó helyreállító mechanizmusokat [89].

1.2.3. A HDL szubfrakciók jelentősége

A HDL az egyéb lipoprotein frakciókhoz hasonlóan igen heterogén. A HDL partikulumok méretük, denzitásuk, összetételük és töltésük alapján szubfrakciókra oszthatóak. Elválasztásukra a klasszikus módszerként az ultracentrifugálást használják, melynek során a HDL az 1,063-1,021 g/ml denzitású lipoprotein frakciót jelenti. Az elsőként alkalmazott módszer a sűrűséggradiens ultracentrifugálás volt, mellyel a nagyobb, kevésbé denz HDL2 és a kisebb, denzebb HDL3 szubfrakció elkülönítése lehetséges [90]. A gradiens gélelektroforézis segítségével méret alapján HDL3c, HDL3b, HDL3a, HDL2a és HDL2b szubfrakciók azonosíthatók [91]. 2D elektroforézis módszerrel pre- β -1, pre- β -2, pre- α , α -4, α -3, α -2 és α -1 frakciók különíthetők el [91]. Használatos továbbá a mágneses magrezonancia spektroszkópia (NMR) módszer, mely nagy, közepes és kis HDL partikulumokat képes azonosítani [7]. A nagy felbontású ion-mobilitás technika alkalmazásával a gradiens gélelektroforézis által elválasztott szubfrakciókkal azonos szubfrakciók választhatók el [92]. A Lipoprint módszer egy csöves gélelektroforézis, mellyel méretük alapján összesen tíz szubfrakció különíthető el három alcsoportba: nagy, közepes és kis HDL szubfrakcióra osztva. Az elválasztási módszertől függően tehát változik a nevezéktan, az elválasztott szubfrakciók száma és a szubfrakciók jellemzői, melyet a **3. táblázat** foglal össze [93]. A különböző módszerek alkalmazása és az ennek következtében eltérő tulajdonságú szubfrakciók elkülönítése nem könnyíti meg az egyes tanulmányok eredményeinek összevetését és a HDL szubfrakciók jelentőségének megértését sem. A funkcionális eltérések mellett a metodikai különbségek miatt nem

adható egyértelmű válasz arra a kérdésre, hogy melyik HDL szubfrakció emelése vagy csökkentése kedvező az adott populáció esetében.

3. táblázat. A HDL szubfrakciók nomenklatúrája különböző elválasztás technikai módszerek alapján (Rosenson 2011 alapján) [93]

	Nagyon nagy HDL (very large)	Nagy HDL (large)	Közepes HDL (medium)	Kis HDL (small)	Nagyon kis HDL (very small)
Denzitás (g/ml)	1.063-1.087	1.088-1.110	1.110-1.129	1.129-1.154	1.154-1.21
Átmérő (nm)	12.9-9.7	9.7-8.8	8.8-8.2	8.2-7.8	7.8-7.2
Denzitás gradiens ultracentrifugálás	HDL2b	HDL2a	HDL3a	HDL3b	HDL3c
Denzitás (g/ml)	1.063-1.087	1.088-1.110	1.110-1.129	1.129-1.154	1.154-1.170
Gradiens gélelektroforézis, 4-20%	HDL2b	HDL2a	HDL3a	HDL3b	HDL3c
Átmérő (nm)	12.9-9.7	9.7-8.8	8.8-8.2	8.2-7.8	7.8-7.2
2D gélelektroforézis	α -1	α -2	α -3	α -4	pre- β -1
Átmérő (nm)	11.2-10.8	9.4-9.0	8.5-7.5	7.5-7.0	6.0-5.0
NMR	Large HDL-P		Medium HDL-P		Small HDL-P
Átmérő (nm)	12.9-9.7	9.7-8.8	8.8-8.2	8.2-7.8	7.8-7.2
Ion mobilitás	HDL2b		HDL2a+HDL3		
Átmérő (nm)	14.5-10.5		10.5-7.65		
Lipoprint rendszer	Nagy HDL		Közepes HDL		Kis HDL
Méret (10 fr)	HDL-1,-2,-3		HDL-4,-5,-6,-7		HDL-8,-9,-10

Mivel a szubfrakciók eltérő fehérje és lipidösszetételük miatt eltérő funkcióval rendelkeznek, a mennyiségükben és arányukban bekövetkező változások azonos HDL-C szint mellett is klinikai szempontból jelentős változások kialakulásához vezethetnek.

A HDL3-hoz például számos antioxidáns hatású, enzimátikus és nem enzimátikus molekula kötődik. Az előbbire példa a már bemutatott PON1, utóbbira az E-vitaminok (tokoferolok), melyek szabadgyök kötő képességüknél fogva gátolják az LDL oxidatív módosulását, ezáltal a habos sejtek képződését és az endothel sejtek aktivációját. A tokoferolok kötésére képes afamin szintén a HDL3 szubfrakción található meg [94].

A HDL szubfrakciók meghatározásának jelentősége a szív- és érrendszeri betegségek kialakulásában és kezelésében a mai napig kevésbé vizsgált és igen vitatott terület. Mivel a korábbi vizsgálatok során eltérő számú és jellegű betegpopulációkon, eltérő módszerekkel végeztek HDL szubfrakció meghatározásokat, a kapott eredmények

nehezen összevethetőek. Mégis, elfogadott az a nézet, mely szerint a nagyobb méretű HDL szubfrakciók jelentenek nagyobb védelmet az érleszesedés kialakulásával szemben [95].

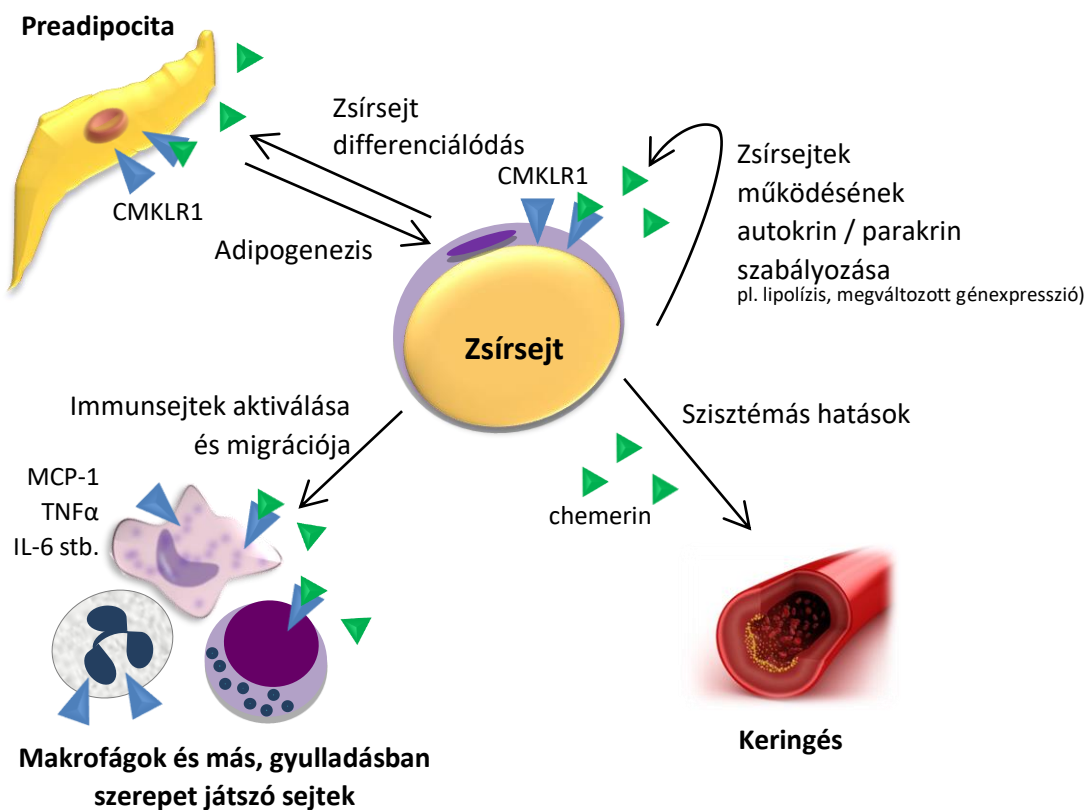
1.2.4. Hormonhatású bioaktív fehérjék hatása a HDL és a HDL szubfrakciók szintjére

Az utóbbi néhány évtized kutatásai alapján egyértelművé vált, hogy a zsírszövet, különösen annak viscerális altípusa nem csupán az energia raktározására szolgál, hanem a gyulladásos, immun- és anyagcsere folyamatokban is aktívan rész vesz bioaktív molekulák termelésének egész során keresztül, melyeket adipokinek nevezünk [96]. Egyesek, például a leptin esetén az ismereteink jelentősen bővültek az elmúlt időszakban, míg mások, például az általunk vizsgált chemerin esetén kevés az adat a fehérje fiziológiás vagy patológiás szerepét illetően [97]. Az elhízás világszerte egyre nagyobb szereppel bíró népbetegség, melyet a lipidanyagcsere zavara és egyértelműen fokozott szív- és érrendszeri kockázat kísér [98].

A HDL metabolizmust és funkciót befolyásolhatják a zsírszövet által termelt hormonhatású fehérjék, az adipokinek is. Ezek közül korábban a leptin [99], adiponektin [100] és rezisztin [101], nemrégiben a PAI-1 [102] és a chemerin [103] HDL funkcióra és szerkezetre gyakorolt hatása igazolódott.

A **chemerint** 1997-ben írták le először [104]. Főként a májban és a fehér zsírszövetben expresszálódik, de számos egyéb szerv és szövet is képes termelni [105]. Legfontosabb receptora a chemokin-like receptor-1 (CMKLR1), mely döntően a fehér zsírszövet preadipocitáin, és adipocitáin, makrofágokon, éretlen dendritikus sejteken és fehérvérsejteken található meg. Ezeken keresztül a chemerin autocrin és paracrin módon szabályozza a zsírszöveti differenciációt, az adipociták működését, az immunsejtek aktivációját és migrációját, és endokrin módon, szisztémás hatást is kifejt [106] (**8. ábra**). Munkacsoportunk igazolta, hogy metabolikusan egészséges, elhízott betegekben a chemerin szintje szoros pozitív korrelációt mutat kis és közepes HDL szubfrakciókkal, míg szignifikáns negatív korrelációt találtunk a nagy HDL szubfrakciókkal és a HDL-C szintekkel, mely felveti a chemerin HDL metabolizmusban játszott szerepét [103]. A chemerin szint lipidanyacserével való kapcsolatát azóta más munkacsoportok is igazolták túlsúlyos és normál súlyú serdülőknél [107] és elhízott gyermekek esetén [108]. Emellett igazolták, hogy a szérumban a chemerin szintje összefügg a koszorúér betegség előfordulási gyakoriságával [109], és az koszorúér meszesedés súlyosságával [110]. Bár még nem tisztázott, hogy a chemerin súlya mekkora az érlemeszesedés kialakulásában, jelentőségére utalhat az a vizsgálat, melyben a ChemR23 chemerin receptor agontista

chemerin-9 nevű chemerin analóg adásával sikerült csökkenteni az érlelmeszedés kialakulásának esélyét humán koszorús ereken, valamint humán vaszkuláris sejt kultúrán [111]. Mindezek alapján a chemerinnel kapcsolatos kutatások egyúttal új terápiás lehetőségek kifejlesztéséhez is vezethetnek.



8. ábra: A chemerin biológiai hatásai (Macdougald 2007 alapján) [106]

CMKLR1, chemokin-like receptor 1; IL-6, interleukin-6; MCP-1, monocita kemoattraktáns protein-1; TNF α , tumor nekrosis faktor alfa

1.3. A lipidcsökkentő kezelések jelentősége

A szervezet koleszterin ellátottságát alapvetően két folyamat határozza meg: a sejtekben, főként a májban történő *de novo* koleszterin szintézis, valamint a táplálékból és a tápcsatornába jutott epéből történő koleszterin felszívódása a vékonybél felső szakaszán [112, 113]. A két folyamat egyensúlyát számos tényező, köztük genetikai eltérések, napszaki ritmus, testsúly, az elfogyasztott táplálék, a fizikai aktivitás, és természetesen a lipidcsökkentő kezelés befolyásolhatja. A koleszterin felszívódás és szintézis aránya egyénenként igen eltérő lehet, nagyjából 25 és 80% között változik, átlagosan 50%-ra tehető [114]. A szervezetbe jutó napi 500-1500 mg koleszterinből 500-1000 mg a szintézisből, 300-500 mg pedig a táplálékból származik, a *de novo* szintetizált és felszívott koleszterin jelentős része: 800-1200 mg az epével kiürül, majd a jejunum proximális szakaszán részben visszaszívódik, a többi pedig a széklettel kiürül [115].

A szérum koleszterinszint csökkentésének első lépése az életmód terápia (telített zsírokban, transzzsírokban és koleszterinben szegény, élelmi rostokban, többszörösen telítetlen zsírsavakban, növényi szterolokban gazdag étrend, az ideális testsúly elérése és megtartása, az alkoholfogyasztás kerülése, a dohányzásról történő leszokás és a rendszeres fizikai aktivitás).

Az életmód terápia hatástalansága esetén gyógyszeres koleszterincsökkentő kezeléssel érhető el. Ennek alapját a nemzetközi és hazai ajánlások alapján a statinok képezik, melyek nem kellő hatékonysága vagy intoleranciája esetén ezetimib, fibrát, omega-3 zsírsav készítmények, illetve proprotein konvertáz-szubtilizin/kexin-9 (PCSK9) gátló szerek alkalmazhatóak [116]. A korábban használt niacin és koleszterin kötő gyanták alkalmazása az evidenciák hiánya és a mellékhatások gyakorisága miatt erősen visszaszorult. A mikroszomális transzfer fehérje gátló lopitamid és az apolipoprotein B szintézis gátló antiszensz oligonukleotid mipomersen adása kizárólag a familiáris hypercholesterinaemia (FH) ritka, súlyos homozigóta változatában javasolt, így a mindennapi orvosi gyakorlatban ezek jelentősége csekély. Amennyiben a gyógyszeres kezeléssel sem érhető el a javasolt lipid célértékek, extrakorporális eljárások: súlyos hipertrigliceridémiában a plazmaférezis, súlyos heterozigóta vagy homozigóta FH esetén a szelektív LDL aferezis kezelés nyújthat megoldást [117].

Az alábbiakban a súlyos hypercholesterinaemiás kezelésében alkalmazott statinok, az ezetimib és a szelektív LDL aferezis legfontosabb lipid és nonlipid hatásait ismertetem.

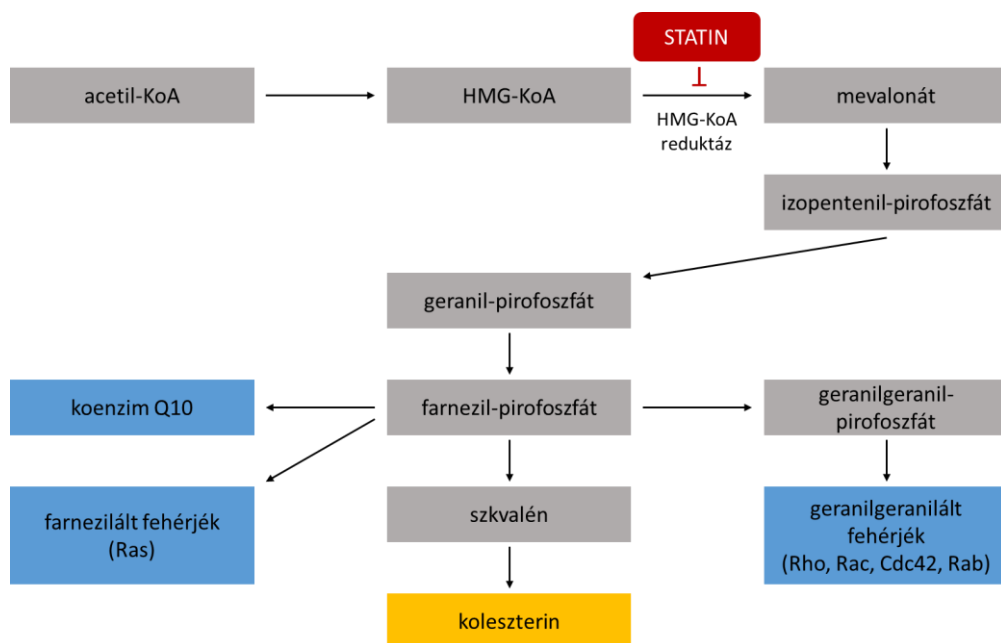
1.3.1. Statinok

A statinok a mai napig a lipidcsökkentő gyógyszeres kezelés legfontosabb eszközei [118]. Ez főként a lipidcsökkentő hatékonyságuknak, másrészt a nem-lipid hatások okozta járulékos (például gyulladást és oxidatív stresszt csökkentő, az immunrendszer és a véralvadási kaskád működését moduláló) hatásaiknak köszönhető. Primer és szekunder prevenciós tanulmányok egész sora igazolja kedvező hatásukat betegek százazrei esetén [119-121]. A statinok a májsejtekben a koleszterin szintézis kulcsenzimét, a 3-hidroxi-3-metilglutaril-koenzim-A (HMG-KoA) reduktázt gátolva egyrészt az LDL prekursorának, a very-low-density lipoproteinnek (VLDL) a szintézisét gátolják, másrészt növelik az LDL receptor expressziót a májsejtek felszínén [118]. Bár gyakran homogén csoportként tekintünk rájuk, és nem teszünk különbséget az egyes statinok között, számos szempontból, például lipidcsökkentő hatékonyságuk és nem-lipid hatásaik tekintetében is különbözőek. Az LDL-C csökkentő hatásukat tekintve a hazánkban alkalmazott statinok közül a leghatékonyabb a rosuvastatin és az atorvastatin, melyet a simvastatin követ. A fluvastatin és a pravastatin ugyan kevésbé hatékony, de metabolizmusát tekintve kedvező lehet, mivel nem ugyanazon a citokróm P450 útvonalon metabolizálódik, mint a legtöbb egyéb gyógyszer. Az összes statin készítmény rendelkezik trigliceridszint csökkentő hatással is, HDL-C emelő hatásuk azonban nem kifejezett (**4 táblázat**).

4. táblázat. Az egyes statinkészítmények lipidcsökkentő hatékonysága

	rosuvastatin	atorvastatin	simvastatin	fluvastatin	pravastatin
Koleszterin	↓30-50%	↓17-46%	↓20-40%	↓13-21%	↓11-28%
LDL-C	↓36-65%	↓35-61%	↓28-45%	↓17-31%	↓17-35%
HDL-C	↑ 9-15%	↑ 3- 12%	↑5-15%	↑3- 10%	↑3-10%
Triglicerid	↓20-45%	↓10-45%	↓10-20%	↓1-13%	↓10-24%

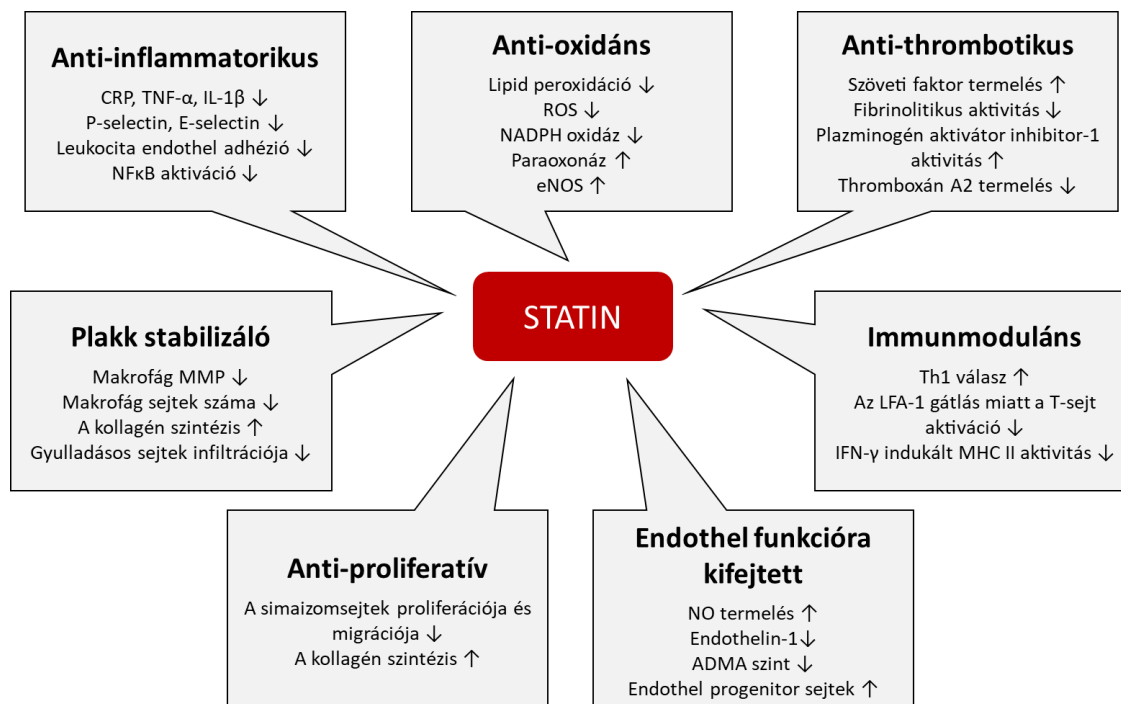
A koleszterin szintézisének csökkentése mellett a mevalonát útvonal gátlása számos olyan egyéb metabolit keletkezését módosítja, melyek jelentős biológia szereppel bírnak (**9. ábra**).



9. ábra. A statinok gátló hatása a mevalonát útvonalra.

HMG-KoA: 3-hidroxi-3-metilglutaril-koenzim-A

A farnezil-pirofoszfát és geranilgeranil -pirofoszfát csökkent mennyisége olyan fehérjék prenilációját (farnezilálását és geranilgeranilálását) gátolja, melyek kulcsszerepet játszanak a sejtek osztódásában, motilitásában, a jelátviteli útvonalak kialakulásában, az intracelluláris kompartmentek működésében. Ide tartoznak a kis GTPáz fehérjék (Ras, Rho, Rac, Cdc42, Rab), melyek posztranszlációs módosulása során a prenil láncok kötődése elengedhetetlen a sejten belül a membránokhoz történő kikötődéshez és a fehérje működésének szabályozásához [122]. A szabadgyök képzésért felelős NADPH oxidáz (NOX) működésének szabályozásában fontos Rac csökkent prenilációja a reaktív oxigéngyökök mennyiségének csökkenéséhez vezet [123]. Mindez magyarázhatja a statinok kedvező hatását az érlemezsedés mellett az egyéb gyulladásos folyamatokra, a daganatok kialakulására és áttét képződésére, valamint az idegrendszer és az immunrendszer működésére. Egyes statin készítmények, például az atorvastatin és annak metabolitjai direkt antioxidáns hatással is rendelkeznek [124]. Ismert a statinok CRP szintre gyakorolt kedvező hatása is melynek klinikai jelentőségét a JUPITER vizsgálat is igazolta [125]. A pleiotróp hatások sokrétű jellegét a **10. ábra** szemlélteti [126].



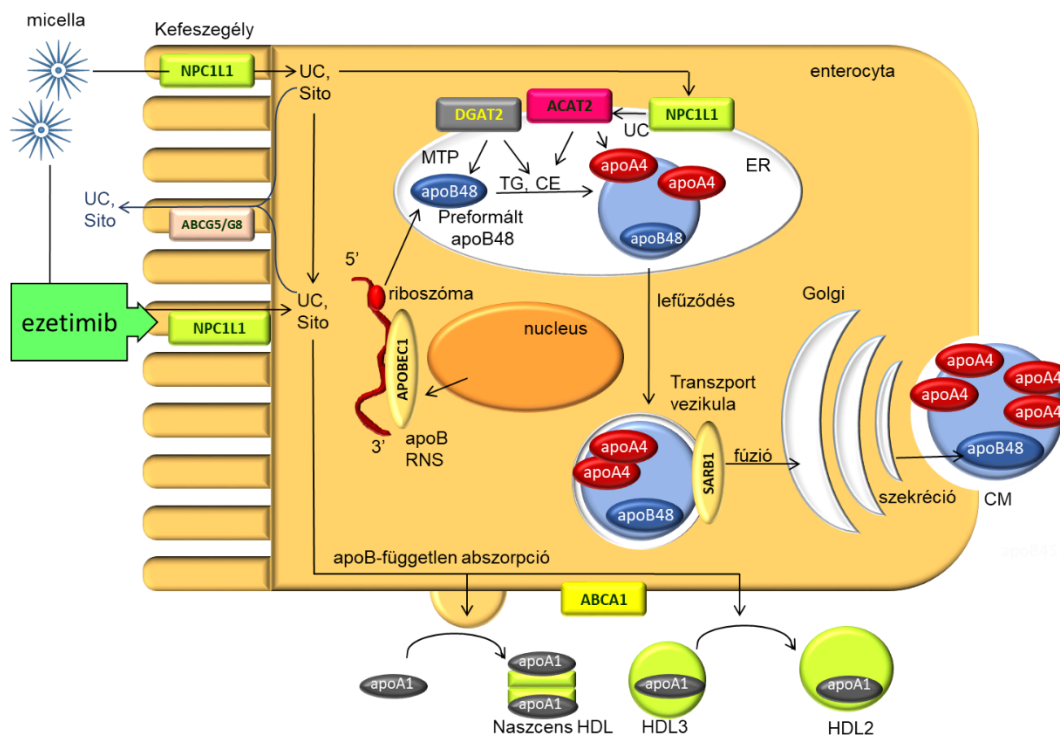
10. ábra. A statinok non-lipid (pleiotróp) hatásai (Bedi és mtsai módosított ábrája)

[126]

Bár e nem-lipid, másnéven pleiotróp hatások létét manapság nem vitatják, ezek klinikai jelentőségéről megoszlanak a vélemények. Sokan a statinok alkalmazása kapcsán észlelt jelentős kardiovaszkuláris kockázatsökkenést kizárólag az LDL-C csökkentő hatással magyarázzák [127], mások egyetértenek azzal, hogy bizonyos kórképek és betegcsoportok esetében ezen járulékos hatásoknak is lehet szerepe [128].

1.3.2. Ezetimib

A Niemann-Pick C1-Like 1 (NPC1L1) egy 1332 aminosavból álló fehérje, mely kulcsszerepet játszik a koleszterin és néhány zsírolédkony vitamin anyagcseréjében [129, 130] (**11. ábra**).



11.ábra. A Niemann-Pick C1-like-1 fehérje szerepe a koleszterin felszívódásban [131]

Nevét a Niemann-Pick C1 fehérjével homológ szerkezetéről kapta, mely a koleszterin lizoszomális transzportjában játszik szerepet [132]. A NPC1L1 egy transzmembrán fehérje, melyet 13 transzmembrán domén, számos N-glikolizációs hellyel rendelkező extracelluláris hurok és egy szterol-szenzitív domén alkot. Az extracelluláris N-terminális domén képes a koleszterin megkötésére [133]. A NPC1L1 sejten belüli elhelyezkedése annak koleszterin tartalmától függ. Valójában a fehérje a sejtmembrán és az endocitotikus kompartmentek között ingázik. Ha az extracelluláris koleszterin szint magas, a koleszterin beágyazódik a sejtmembránba, amelyet a sejt felszíni NPC1L1 észlel, és megköt. A NPC1L1-koleszterin komplex internalizálódik a klatrin/AP2 mediált endocitotikus útvonalon és a mikrofilamentumok mentén eljut az endoplazmatikus retikulumig, ahol tárolódik. Ha az intracelluláris koleszterin szint alacsony, a NPC1L1 fehérje visszakérül a sejt felszínre és további koleszterint köt meg [134]. Abban az esetben, amikor a sejten belüli koleszterin mennyisége elegendő, a NPC1L1 a sejten belül, az endocitotikus kompartmentekben mutatható ki, a koleszterin intracelluláris

menyiségének csökkenésekor azonban a sejt felszínére helyeződik, és elősegíti a szabad koleszterin felvételét [135]. A sejten belüli koleszterin koncentráció emellett a NPC1L1 expressziót is szabályozza számos transzkripció faktor, többek között a SREBP-2, az LXR α , HNF α és PPARs által [136]. További, a NPC1L1 expressziót moduláló tényező lehet a kolecisztokinin és glükóz szérumszintje [137, 138]. A NPC1L1 csaknem kizárólag az emésztőrendszer, ezen belül a vékonybél, főként a jejunum proximális szakaszának hámsejtjeiben expresszálódik [133].

A fehérje felfedezéséhez szokatlan módon egy lipidcsökkentő gyógyszer, az ezetimib felfedezése vezetett, melyet eredetileg egy másik fehérje, az acetil-koenzim-A: koleszterin-aciltranszferáz-2 (ACAT2) gátlására fejlesztettek ki, de jóval hatékonyabbnak bizonyult a koleszterin felszívódás gátlásában [139, 140], jól kiegészítve ezzel a statinok hatását.

Simvastatinnal kombinálva az ezetimib 44-57%-os [141], míg atorvastatinnal kombinálva még jelentősebb, akár 50-60%-os LDL-C csökkenést eredményez [142]. Statin intolerancia esetén az ezetimib monoterápiában is alkalmazható, 18-20%-os LDL-C csökkentő hatékonysággal. Az IMPROVE-IT vizsgálat elsőként bizonyította, hogy egy nem statin típusú lipidcsökkentő kezelés is valós klinikai haszonnal jár, mivel a statin kezeléssel kombinált ezetimib kardiovaszkuláris morbiditásra és mortalitásra kifejtett jótékony hatását igazolta akut koronária szindrómás betegekben [143]. A SHARP vizsgálat eredményei alapján a krónikus vesebetegségben a simvastatin és ezetimib kombinált kezelése kifejezetten kedvező, mivel szignifikánsan csökkentette a major vaszkuláris események számát [144]. Az atorvastatin és az ezetimib együttes alkalmazása az atorvastatin monoterápiához viszonyítva szignifikánsan nagyobb mértékű plakk méret csökkenést eredményezett a PRECISE-IVUS vizsgálatban koronária intervenciót átesett betegekben [145].

Az ezetimib a statinokhoz hasonlóan rendelkezik nem-lipid hatásokkal, egyebek között anti-oxidáns, anti-inflammatorikus és simaizomsejt proliferációt gátló hatásáról is beszámoltak [146-148].

1.3.3. Szelektív LDL aferezis kezelés

A szemiszelektív, majd szelektív extrakorporális technikákat a koleszterin, ezen belül elsősorban az LDL-C eltávolítására fejlesztették ki az egyéb lipidcsökkentő terápiára

rezisztens vagy azzal szemben intoleráns súlyos hypercholesterinaemiás beteg kezelése céljából. A szelektív LDL aferezis egy extrakorporális eljárás, amely szignifikánsan csökkenti az ApoB tartalmú lipoprotein részecskéket, vagyis az LDL-koleszterin, az Lp(a) és a VLDL (very low density lipoprotein) szintet. Jelenleg homozigóta familiáris hypercholesterinaemiás (HoFH) és olyan heterozigóta familiáris hypercholesterinaemiás (HeFH) betegek kezelésére alkalmazzák, akik nem reagálnak megfelelően a maximálisan tolerálható gyógyszeres lipidcsökkentő terápiára vagy statin intoleránsak [149]. Az aferezis kezelést maximálisan tolerálható statin és ezetimib dózisokkal javasolt kombinálni. Az LDL-C szintnek 6 hónapon keresztül meg kell haladnia az ebben a csoportban megszabott célértéket, az ajánlások szerint alkalmazott diéta és a maximális dózisú tolerálható lipidcsökkentő gyógyszeres terápia mellett. Alternatív indikációt jelent, ha a heterozigóta FH betegekben a maximális dózisú tolerálható gyógyszeres lipidcsökkentő terápia mellett nem érhető el legalább 40%-os LDL-C csökkenés. Szintén alternatív indikációt jelent a dokumentált ISZB mellett 60 mg/dl-t meghaladó Lp(a) szint, az alkalmazott gyógyszeres terápia ellenére is 4 mmol/l fölötti LDL-C szinttel. Számos lipid aferezis módszer létezik, melyeket a **5. táblázat** foglal össze [150]. A szelektív eljárások a technikai megoldástól függetlenül az LDL-C szintek körülbelül átlagosan 60%-os csökkenését eredményezik.

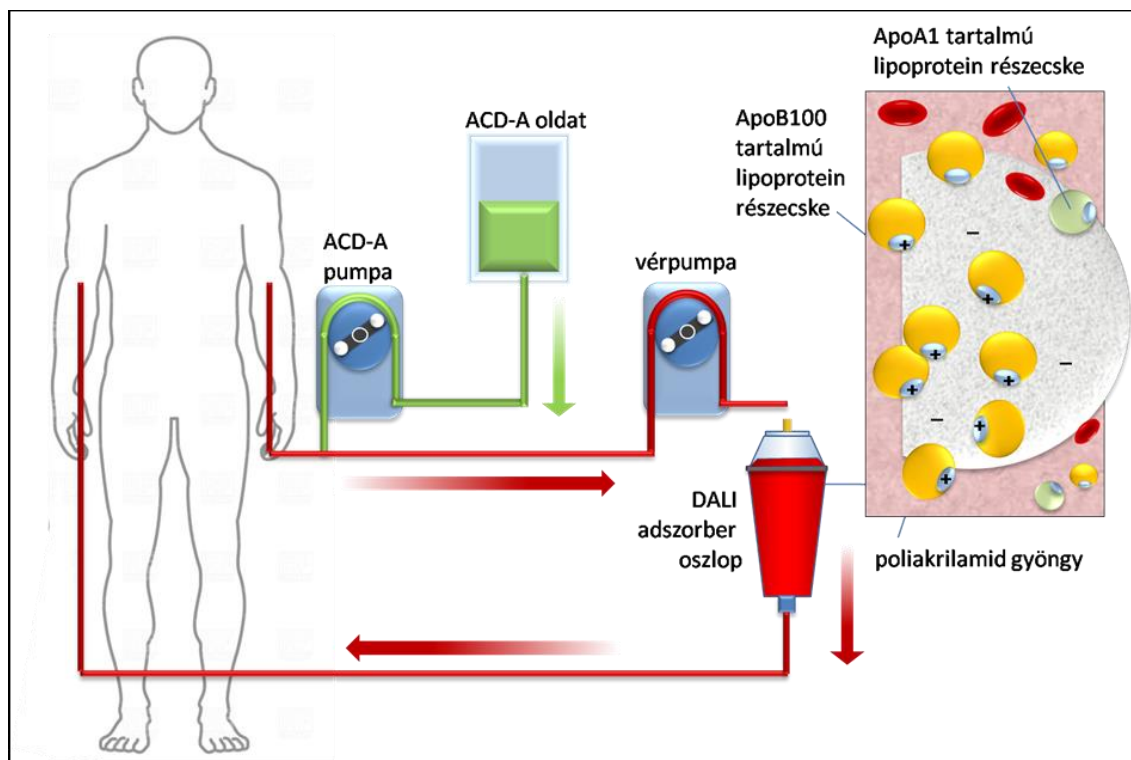
5. táblázat. A lipid aferezis módszerei [150]

évszám	szerzők	módszer	előnyök	hátrányok
1967	De Gennes és mtsai.	plazmaferézis	Káros anyagok gyors és jól tolerálható eliminációja	Nem szelektív, fennáll a fertőzés és vérzés veszélye, szubsztituáló oldatot igényel
1980	Agishi és mtsai.	kaszkád filtráció	Szemi-szelektív	fennáll a fertőzés veszélye, csekély hatékonyság
1981	Stoffel és mtsai.	immunadszorpció	Szelektív, hatékony, újrahasznosítható, regenerálható	Drága technológia
1983	Borberg és mtsai.	immunadszorpció	Szelektív, hatékony	Drága technológia

1983	Wieland és mtsai.	heparin.indukált LDL precipitáció (HELP)	Szelektív, hatékony	Drága technológia
1985	Nosé és mtsai.	termofiltráció	Szelektív, hatékony	Elavult technológia, a makromolekulák hő okozta változásai nem ismertek, nem elérhető
1985	Antwiller és mtsai.	dextrán szulfát-indukált LDL adszorpció	Szelektív, hatékony	Drága technológia, nem elérhető
1987	Mabuchi és mtsai.	dextrán szulfát LDL adszorpció (Liposorber LA 15)	Szelektív, hatékony	Drága technológia
1993	Bosch és mtsai.	LDL hemoperfúzió (DALI)	Szelektív, hatékony, egyszerű technológia	Nem ismertek
2003	Otto és mtsai.	LDL hemoperfúzió (Liposorber D)	Szelektív, hatékony, egyszerű technológia	Nem ismertek

1993-ban írta le először Bosch az LDL hemoperfúziós módszert (direct adsorbition of lipoproteins – DALI, Fresenius, Germany) [151], melynek lényege, hogy a perifériás vénás teljes vért egy speciális adszorber oszlopon pumpálják át, amely apró poliakrilát gyöngyökből álló mátrixot alkalmaz. A kis 150-200 µm átmérőjű gyöngyök két szita segítségével rögzítve vannak az oszlopban. A gyöngyök szerkezete porózus, amely lehetővé teszi a kizárásos kromatográfia elvének használatát nagy külső és belső felszín biztosítva az adszorpcióhoz (a teljes felszín több mint 1000 m²-es, melynek több mint 99%-a a gyöngyökön belül található). A poliakrilát az LDL receptorhoz hasonlóan negatívan töltött karboxilát csoportokat tartalmazó polianionokból áll. A polianionok kölcsönhatásba lépnek az LDL és a Lp(a) ApoB molekularészének pozitív töltésű kationos csoportjaival. A létrejövő elektrokémiai kölcsönhatásnak köszönhetően ezek a pozitív töltésű lipoproteinek a gyöngyökön kikötődnek. A kisebb lipoproteinek a pórusokon keresztül könnyedén átjárják a gyöngyök belső szivacs-szerű szerkezetét. A HDL mérete miatt szintén bejut a gyöngyökbe, de a töltéssel nem rendelkező ApoA1 tartalma miatt nem kötődik a felszínhez, így nem eliminálódik. A koleszterin, LDL, Lp(a) és trigliceridek hatékony adszorpciójához 1,5-2,0 liter vérmennyiség szükséges. Az oszlop regenerálására nincs szükség, mivel az oszlopok egyszer használatosak. Ezen

egyszerű extrakorporális eljáráshoz két perifériás vénás vérnyerési lehetőség elegendő, plazmaszeparációt nem igényel, a monitorozás az afferens és efférens száron való vérnyomásméréssel történik. A véralvadás gátlására citrát tartalmú ACD-A oldatot használunk (12.ábra)



12. ábra. Az LDL hemoperfúziós módszert (direct adsorption of lipoproteins – DALI) rendszer működésének vázlatos rajza

A lipoproteineken kívül a rendszer a pozitívan töltött kalcium és magnézium ionokat is megköti, ezért a tényleges kezelés előtt az oszlopokat át kell mosni 4-6 liter primer oldattal, amely ezeket az elektrolitokat tartalmazza. Az adszorber ezáltal telítődik ezekkel a kationokkal, így megelőzhető a kezelés alatt a hipokalcémia és hipomagnezémia kialakulása. A DALI rendszer három különböző adszorber méretben létezik, DALI 500, 750 és 1000 ml-es adszorberek vannak forgalomban, melyek lehetővé teszik gyermekek, de akár az átlagosnál nagyobb termetű felnőttek kezelését is. A kezelés során, az adszorberen átjutott, az ApoB tartalmú lipoproteinekben szegény vér visszakerül a betegbe, így sem az alakos elemek, sem a plazma komponensek pótlására nincs szükség.

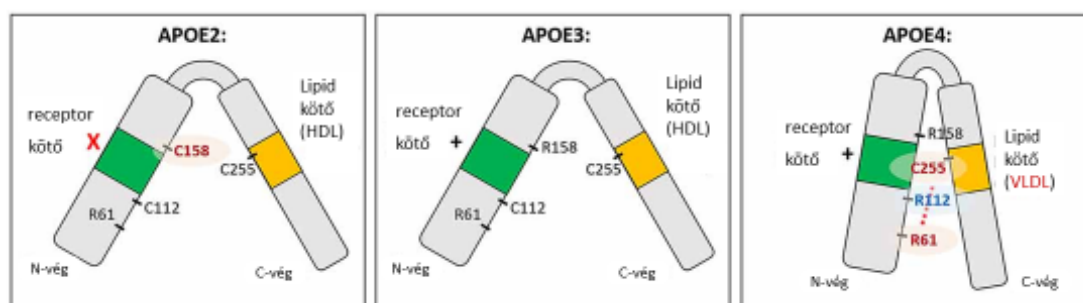
A DALI rendszer előnyei a jó szelektivitás, nagy hatékonyság, jó tolerálhatóság és egyszerű technológia.

Az egyéb extrakorporális eljárásokhoz hasonlóan a mellékhatások kialakulása ritka, az esetek kevesebb, mint 4%-ban alakulhat ki enyhe, jól kezelhető vérnyomás ingadozás, a vérnyerés helyén bevérzés, hipokalcémia vagy hipomagnezémia. Kellemetlen, de többnyire múló tüneteket okozhat a bradikinin reakció, melynek lehetősége miatt a betegek a bradikinin lebontását is blokkoló angiotenzin-konvertáló enzim gátló vérnyomáscsökkentők szedése ennél az eljárásnál szigorúan tilos [152].

1.5. A lipidanyagcserét és a lipidcsökkentő kezelés hatékonyságát befolyásoló genetikai tényezők jelentősége

1.5.1. Apolipoprotein E polimorfizmus

A humán ApoE egy 35 kDa méretű glikoprotein, mely számos biológiai hatással rendelkezik [153]. Génje a 19-es kromoszómán található. A gyakori génpolimorfizmus alapján három különböző allél: az $\epsilon 2$, az $\epsilon 3$ és az $\epsilon 4$ különböztethető meg, melyek az E2, E3 és E4 típusú fehérjéket kódolják [154] (13. ábra).



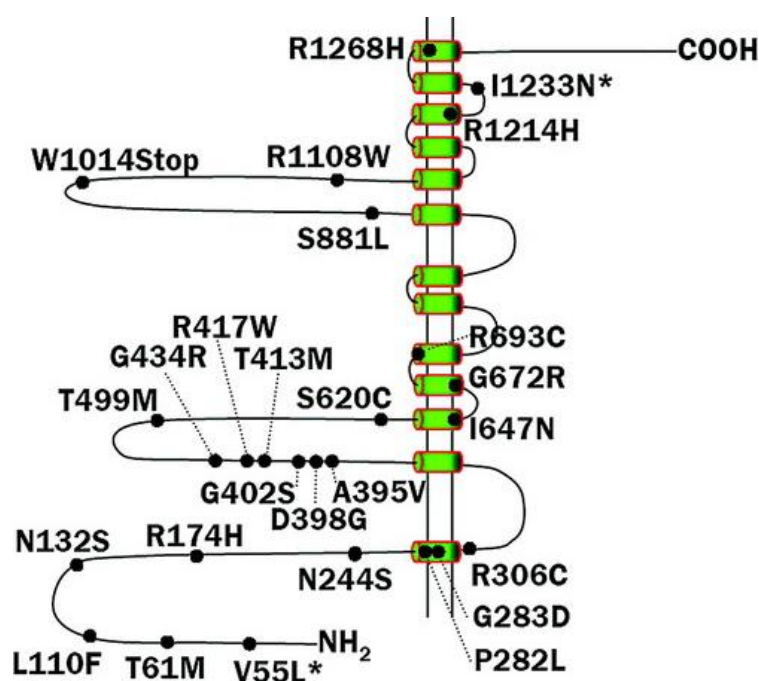
13.ábra. Az ApoE génpolimorfizmus következtében kialakuló három fehérje (Fernandez és mtsai módosított ábrája [154])

Az ApoE N-terminális és C-terminális doménjét egy középső pántszerű szakasz köti össze. Az N-terminális domén a receptorhoz való kötődésért felel, míg a C-terminális doménen található a lipid kötő szakasz. Az egyes izoformák a 112-es és 158-as pozícióban lévő aminosavakban különböznek. Az ApoE2-ben a 158-as pozícióban lévő cisztein (C158) zavart okoz a receptorhoz való kötődésben, míg az ApoE4-ben a 112-es pozícióban lévő arginin (R112) megváltoztatja a domén konformációját, melynek

következtében az N-terminális doménen lévő R61 interakcióba lép a C-terminális doménen helyet foglaló C255-tel. Ez a módosulás megváltoztatja az ApoE lipid kötő képességét, mely miatt az HDL helyett inkább a VLDL részecskéket köti meg [154]. Ennek következtében három homozigóta (E2/2, E3/3 és E4/4), valamint három heterozigóta (E2/3, E2/4 és E3/4) fenotípus fordulhat elő az átlag populációban [155]. A három allél által kódolt fehérje tehát számos tulajdonságát tekintve eltér egymástól, ezek közül a leglényegesebb az LDL receptorához történő különböző affinitásuk [156]. Korábbi vizsgálatok alapján a plazma koleszterin szint nagyjából 60%-át genetika tényezők határozzák meg, ezen belül körülbelül 14%-ért felelős az ApoE polimorfizmus [157]. Az elmúlt évtizedek során számos vizsgálat igazolta, hogy az ApoE polimorfizmus jelentős hatást gyakorol az LDL-C és az ApoB szintjére is, nagyjából 10-15%-ban [158, 159]. Ismervén az LDL-C szint kardiovaszkuláris kockázatra gyakorolt jelentős hatását, az ApoE polimorfizmus jelentősége egyértelmű. A vad típusnak tartott E3/3 fenotípushoz képest az $\epsilon 4$ hordozók kb. 5-7%-kal magasabb, míg az $\epsilon 2$ hordozók ugyanennyivel alacsonyabb LDL-C szinttel rendelkeznek. A legtöbb vizsgált populációban az egyének kb. 70%-a tartozik az $\epsilon 3/\epsilon 3$ genotípusba, míg a populáció maradék kb. 30%-a legalább egy $\epsilon 2$ vagy $\epsilon 4$ allélt hordoz, így kiindulási LDL-C szintjük jelentősen eltér a többségétől [160]. Számos korábbi vizsgálat igazolta, hogy az ApoE genetikai variációi befolyásolják a statin kezelés hatékonyságát [161-163]. Egy másik korábbi tanulmányban azt találták, hogy az atorvastatin és pravastatin kezelés LDL-C csökkentő hatékonyság jelentősen kifejezettebb volt az $\epsilon 2$ hordozókban, mint az $\epsilon 4$ alléllal rendelkezők esetén [164]. Egyetlen korábbi vizsgálat során értékelték az ezetimib lipidcsökkentő hatékonyság és az ApoE polimorfizmus kapcsolatát, melynek során a statin kezelés mellé adott napi 10 mg ezetimib hatását vizsgálták 14 $\epsilon 4$ allélt hordozó és 14, korban és nemben illesztett $\epsilon 3/3$ homozigóta beteg esetén. Az $\epsilon 4$ allélt hordozók esetén a kiindulási összkoleszterin, LDL-C és trigliceridszint jelzetten magasabb, míg a HDL-C szint kissé alacsonyabb volt az $\epsilon 3/3$ homozigóta beteghez képest, az ezetimib kezelés szignifikáns hatást fejtett ki minden vizsgált lipid paraméterre, függetlenül az ApoE genotípustól [165]. Az ezetimib monoterápia és az ApoE genotípus kapcsolatát azonban korábban nem vizsgálták.

1.4.2. Niemann –Pick C1-Like 1 polimorfizmus

Hasonlóan számos egyéb transzporter fehérjéhez, a NPC1L1 működését is jelentősen befolyásolhatják genetikai tényezők, ezen belül a funkciómódosulással járó mutációk és polimorfizmusok. A NPC1L1 gén funkcióvesztő mutációi alacsonyabb szérum LDL-C szinttel és jelentősen csökkent kardiovaszkuláris kockázattal, ugyanakkor bizonyos esetekben epekövesség kialakulásának fokozott kockázatával járnak [166], bár az utóbbit egyes szerzők cáfolják [167]. Emellett a NPC1L1 génje esetén jelentős számban írtak le egy nukleotid eltérést okozó polimorfizmusokat, melyek hatást gyakorolnak a szterolok, így a koleszterin felszívódás mértékére, mely ennek hatására módosítja a szérum LDL-C koncentrációját is [168] (14. ábra).



14. ábra. A NPC1L1 gén leggyakoribb polimorfizmusai (Huff és mtsai nyomán [169])

Egy korábbi tanulmányban a NPC1L1 és az ABCG5/G8 polimorfizmusok a szterolok felszívódására és plazmakoncentrációjára kifejtett hatását vizsgálták alacsony, illetve magas kiindulási növényi szterol szinttel rendelkező hypercholesterinaemiás férfiak esetén. 4 hétig alkalmazott napi 2 növényi szterol tartalmú étrendet alkalmazva azt találták, hogy a NPC1L1 c.872C>G (L272L) és c.3929G>A (Y1291Y) genotípusok esetén a ritka allélt hordozó egyéneknek a növényi szterolok hatására létrejött LDL-C szint csökkenés 2,4-szer nagyobb mértékű volt a gyakori allélt hordozókhoz viszonyítva [170].

Olyan autoszomális domináns hypercholesterinaemiás betegeknél, ahol az LDL-receptor és ApoB génjében nem találtak patogén mutációt, de fokozott szterol felszívódást észleltek ritkábban fordult elő az AC haplotípus a NPC1L1 c.-133A>G és c.-18C>A variánsok esetén. A további vizsgálatok azt igazolták, hogy a c.-133A>G polimorfizmus szignifikáns mértékben befolyásolja a NPC1L1 promóter aktivitását [171], ugyanakkor ennek gyakorlati jelentősége a lipidcsökkentő kezelés során nem volt tisztázott.

2. CÉLKITŰZÉSEK

Célul tűztük ki Fredrickson IIa és IIb típusú hyperlipidaemiában szenvedő betegekben:

1. A PON1 aktivitás és az artéria carotis intima média vastagság összefüggésének vizsgálatát.
2. A PON1, a MPO és az MMP-9 enzimek működése közötti összefüggések vizsgálatát vaszkuláris megbetegedésben szenvedő és nem szenvedő, lipidcsökkentő kezelésben nem részesülő betegekben.
3. A PON1, a MPO és ismert vaszkuláris biomarkerek közötti összefüggések vizsgálatát vaszkuláris megbetegedésben szenvedő és nem szenvedő, lipidcsökkentő kezelésben nem részesülő betegekben.
4. A PON1, a MPO és a HDL szubfrakciók közötti összefüggések vizsgálatát vaszkuláris megbetegedésben szenvedő és nem szenvedő, lipidcsökkentő kezelésben nem részesülő betegekben.
5. Az atorvastatin kezelés hatásának vizsgálatát a PON1 aktivitásra és a Comet assay-vel detektált oxidatív DNS-károsodásra.
6. Az atorvastatin kezelés hatásának vizsgálatát a HDL szubfrakciókra és a HDL-hez kötött enzimek (PON1, CETP és LCAT) aktivitására, ill. szintjére.
7. Az ApoE génpolimorfizmus ezetimib monoterápia hatékonyságára gyakorolt hatásának vizsgálatát statin intoleráns betegekben.
8. A NPC1L1 gén c.-133A>G promóter polimorfizmusának ezetimib monoterápia hatékonyságára gyakorolt hatásának vizsgálatát statin intoleráns betegekben.

Súlyos familiáris hypercholesterinaemiában szenvedő betegekben:

9. A szelektív LDL aferezis kezelés hatásnak vizsgálatát a szérum chemerin szintekre.
10. A szelektív LDL aferezis kezelés hatásnak vizsgálatát a szérum afamin és E-vitamin szintekre.

3. BETEGEK ÉS MÓDSZEREK

3.1. Beteg kiválasztása

3.1.1. Az 55 év alatti carotis szűkületben szenvedő betegek és kontrollok beválasztása

A betegek a Debreceni Egyetem Neurológiai Klinikájának Neuroszonológiai Laboratóriumából kerültek bevonásra. Olyan 55 év alatti betegeket választottunk be, akiknek legalább 30%-os arteria carotis interna szűkülete vagy elzáródása volt a bevonáskor. Korban és nemben illesztett kontroll csoportként olyan betegeket vontunk be, akiknél az ultrahang vizsgálat során arteria carotis plakk vagy szűkület nem igazolódott, a kontrollként bevontak többségénél tenziós fejfájás vagy szorongás miatt végeztek gondozást. Kizártuk a fertőzőes, malignus vagy autoimmun betegségben szenvedő betegeket, valamint azokat, akiknél a bevonást megelőző hat hónaban stroke zajlott vagy műtét történt. A betegek tájékoztatást követően beleegyező nyilatkozatot írtak alá. A vizsgálatot a Debreceni Egyetem Etikai Bizottsága engedélyezte.

3.1.2 Túlsúlyos és elhízott, lipidcsökkentővel nem kezelt betegek kiválasztása

Százhatvanhét túlsúlyos, felnőtt, kaukázusi, Fredrickson IIa és IIb típusú hyperlipidaemiás beteget vontunk be a vizsgálatba. A résztvevőket a Debreceni Egyetem Belgyógyászati Intézet Lipid Szakrendelésének beteganyagából választottuk ki. A túlsúlyos betegeket a BMI alapján definiáltuk ($BMI \geq 25 \text{ kg/m}^2$).

Minden beteg esetében végeztünk fizikális vizsgálatot és készült carotis ultrahang. Kiegészítő képalkotó vizsgálat a beteg panaszai alapján, illetve a normálistól eltérő fizikális, illetve elektrokardiográfia (EKG) vizsgálat esetén történt (alsóvégtagi artériás Doppler ultrahang, szívultrahang vagy komputer tomográfia (CT)).

Minden betegnél rögzítettük a magasvérnyomás, a 2-es típusú cukorbetegség és a dohányzás fennállását. Magasvérnyomást a vérnyomáscsökkentő gyógyszerek szedése, $\geq 140 \text{ Hgmm}$ szisztolés vagy ≥ 90 feletti diasztolés vérnyomás esetén diagnosztizáltunk. 2-es típusú cukorbetegséget a rendszeres vércukorszint-csökkentő gyógyszer szedése, illetve inzulin rendszeres alkalmazása vagy $\geq 7 \text{ mmol/L}$ éhomi vércukor-szint esetén állapítottunk meg. A dohányzást korábbi (az elmúlt 10 évben legalább fél évig tartó) vagy jelenlegi rendszeres dohányzás alapján határoztuk meg. A betegeket két, nemben illesztett alcsoportra osztottuk a meglévő, illetve jelen nem lévő vaszkuláris szövődmények alapján (vaszkuláris szövődménnyel rendelkező [VSZ] és vaszkuláris szövődménnyel nem

rendelkező betegek [NVSZ]). A vaszkuláris szövődményeket ismert iszkémiás szívbetegség (miokardiális infarktus vagy koronária szklerózis), iszkémiás cerebrovaszkuláris betegség (iszkémiás agyi infarktus, tranziens iszkémiás attack vagy az artéria carotis sztenóza/elzáródása), illetve perifériás artériás betegség esetén diagnosztizáltuk. A vaszkuláris szövődményeket a beteg kórelőzménye vagy a képalkotó eljárások eredményei alapján határoztuk meg. A vaszkuláris szövődménnyel rendelkező csoportba soroltuk a már egyetlen szövődménnyel rendelkező betegeket is. Bevonáskor a betegeknek akut panaszuk nem volt. Kizárásra kerültek azok a betegek, akik a bevonás előtt legalább 6 héttel vagy a bevonáskor lipidcsökkentő gyógyszert szedtek, autoimmun betegségben, krónikus gyulladásos kórképben, aktív máj vagy endokrin betegségben, 1-es típusú cukorbetegségben, tumoros alapbetegségben vagy végstádiumú vesebetegségben szenvedtek. A vizsgálatot a Helsinki Deklaráció szerint végeztük, minden beteg a vizsgálatba való bevonás időpontjában a Debreceni Egyetem Etikai Bizottsága által jóváhagyott beegyező nyilatkozatot írt alá.

3.1.3. Fredrickson IIa és IIb típusú hyperlipidaemiás betegek és a kontroll csoport kiválasztása

A vizsgálatba 21-70 év közötti, korábban nem kezelt Fredrickson IIa és IIb típusú hyperlipidaemiás beteg került bevonásra (szérum triglicerid szint $<2,2$ mmol/l, LDL-C $>4,2$ mmol/l). Kizártuk a máj-, endokrin- és vesebetegségben szenvedő betegeket (szérum kreatinin szint >130 $\mu\text{mol/l}$), valamint kizárási kritérium volt az alkoholizmus, a gyógyszerfüggőség, az epekövesség, a malignus alapbetegség, a terhesség vagy szoptatás, az antikoaguláns vagy lipidcsökkentő kezelés és a dohányzás. Valamennyien a National Cholesterol Education Program (NCEP) step 1 diétáját követték.

A vizsgálat ideje alatt a betegek fizikai aktivitása lényegesen nem változott. A bakteriális vagy vírusos fertőzésre utaló laboratóriumi paraméterek (CRP, leukocytaszám, Westergreen) normál tartományban voltak. A kontroll csoportot a klinika járóbeteg szakrendelésén megjelenő, rutin belgyógyászati fizikális vizsgálat, laboratóriumi vizsgálatok és EKG alapján egészségesnek bizonyult, nem dohányzó, gyógyszeres kezelésben nem részesülő egyének alkották.

A betegek és kontrollok felvilágosítást követően beleegyező nyilatkozatot írtak alá a vizsgálatba történő bevonásukhoz. A vizsgálat a Debreceni Egyetem Etikai Bizottságának szabályzata szerint és annak engedélyével történt.

3.1.4. Statin intoleráns betegek kiválasztása

Vizsgálatunkba 101 (69 nő és 32 férfi) statin intoleráns, Fredrickson IIa és IIb típusú hyperlipidaemiás beteg került bevonásra a Debreceni Egyetem Belgyógyászati Intézet Lipid Szakrendelésének beteganyagából.

42 esetben statin indukálta miopátia (mialgia kreatinin-kináz emelkedéssel vagy anélkül), 28 esetben statin indukálta májenzim emelkedés (hepatopátia), 15 esetben statin indukálta súlyos gyomor-bélrendszeri tünet igazolódott. 16 beteg esetében egynél több tünet jelentkezett: 2 beteg esetében miopátia, hepatopátia és gyomor-bélrendszeri tünetek is, 7 betegnél miopátia és hepatopátia, 5 beteg esetében miopátia és gyomor-bélrendszeri tünetek, 2 betegnél hepatopátia és gyomor-bélrendszeri tünetek igazolódtak. Azok a betegek, akik rendszeres alkohol-, illetve drogfogyasztók, malignus alapbetegségben szenvedtek, kizárásra kerültek. Kizártuk továbbá a terheseket, szoptató anyákat, antikoaguláns vagy lipidcsökkentő kezelésben részesülő betegeket.

A betegek 6 hétig az Országos Koleszterin Oktatási Program által meghatározott étrend alapján étkeztek, majd ezt követően 12 hónapon keresztül naponta 10 mg ezetimibet (Ezetrolt) szedtek. Minden beteg a kutatás természetéről és céljáról való részletes felvilágosítás után írásban beleegyezését adta a vizsgálatba, melyet a Debreceni Egyetem Etikai Bizottsága és az Országos Gyógyszerészeti Intézet jóváhagyott. A vizsgálatot regisztrálta az Európai Klinikai Vizsgálatok Adatbázisa (EudraCT number 2009–017732–40).

A testtömeg index (body mass index, BMI) értéket az SI mértékegységrendszernek megfelelően a testsúly és a testmagasság négyzetének hányadosaként alapítottuk meg (kg/m^2).

3.1.5. A súlyos heterozigóta familiáris hypercholesterinaemiás betegek kiválasztása

Vizsgálatainkba a Debreceni Egyetem Belgyógyászati Intézet A épületének Lipid szakrendelésén gondozott súlyos HeFH betegek kerültek bevonásra, akiknél a gyógyszeres lipidcsökkentő kezelés mellett is jelentősen emelkedett, célérték feletti LDL-

C szintet észleltünk, ezért a szelektív LDL aferezis kezelés (DALI) elkezdése vált indokolttá. A vérvételek mindegyike a betegek első DALI kezelése előtt és után történt, egy esetben végeztünk 12 hónapos követéses vizsgálatot a chemerin szintre gyakorolt tartós hatás vizsgálata céljából.

Az afamin és E-vitamin szintek vizsgálatakor egészséges kontroll személyek is bevonásra kerültek a Debreceni Egyetem Belgyógyászati Intézet „A” épületének Ambulanciájáról. Vizsgálatunkban a beválasztás feltétele 21-70 év közötti életkor volt. A betegek a vizsgálat jellegéről és céljáról szóló részletes felvilágosítást követően beleegyező nyilatkozatot írtak alá. A Debreceni Egyetem Etikai Bizottsága hozzájárult a vizsgálatához. Kizárási kritériumként szerepelt az akut bakteriális vagy vírusfertőzés, az elmúlt három hónapban multivitamin készítmények szedése, az emelkedett májenzimekkel jellemzett vagy az anamnézisben szereplő krónikus májbetegség és az alkohol- vagy drogfüggőség, az epekövesség, a közelmúltban zajlott miokardiális infarktus, a kezeletlen endokrin betegségek, a terhesség és a szoptatás, a humán immundeficiencia-vírus pozitivitás, a súlyos mentális retardáció (intelligencia-hányados: $IQ < 40$), és kizárásra kerültek az ismert daganatos vagy daganatellenes kemoterápiában részesülő betegek.

3.2. Vérvétel és laboratóriumi paraméterek mérése

3.2.1. Vérvétel az 55 év alatti arteria carotis szűkületben szenvedő betegek esetén

A betegeknél 12 órás éhezési periódust követően, reggel 7:30 és 8:00 között 10 ml vénás vér levétele történt.

3.1.2. Túlsúlyos és elhízott, lipidcsökkentővel nem kezelt betegek esetében a vérvétel és a laboratóriumi paraméterek mérése

A vénás vér levétele reggel 08:00 és 10:00 között, 12 órás éhezést követően történt. A szérum azonnal feldolgozásra került.

3.1.3. Statin intoleráns betegek esetében a vérvétel és a laboratóriumi paraméterek mérése

A betegek bevonásakor, illetve 3, 6 és 12 hónapos ezetimib kezelés után, 12 órás éhezést követően reggel 07:30 és 08:00 óra között 10 ml vénás vér levétele történt.

3.2. A lipidparaméterek meghatározása

A lipid értékek meghatározása a Debreceni Egyetem Laboratóriumi Medicina Intézetében friss szérumból történt. A szérum koleszterin és triglicerid szintek meghatározását részben Boehringer-Mannheim enzim kittel, részben enzimatikus, kolorimetriás módszerrel (GPO-PAP, Modular P-800 Analyzer; Roche/Hitachi, Basel, Switzerland) végezték. Az LDL-C szintet kezdetben a Friedewald-formula alapján kalkulálták, később a HDL-C és LDL-C értékek meghatározás homogén, enzimatikus, kolorimetriás próbával (Roche HDL-C plus 3rd generation, Roche LDL-C plus 2nd generation, Basel, Switzerland) végezték. Az apolipoprotein szintek meghatározása részben immunnefelometriás módszerrel (Orion Diagnostica kit), részben immunturbidimetriás módszerrel (Tina-Quant APO A (Version 2; Roche), Tina-Quant APO B (Version 2; Roche) történt.

3.3. Az egyéb rutin laboratóriumi paraméterek meghatározása

A kreatinin-kináz aktivitásának meghatározását UV kinetikus módszerrel (CK liquid), a Nemzetközi Klinikai Kémiai Szövetség (International Federation of Clinical Chemistry, IFCC) ajánlásának megfelelően Roche/Hitachi Modular P800 analizátoron, míg a magas-szenzitivitású C-reaktív protein (hsCRP) meghatározását ugyanazon a készüléken immunturbidimetriás módszer (CRPLX) segítségével végezték. A hemoglobin A1C (HbA1C), húgysav, ultraszenzitív pajzsmirigy stimuláló hormon (sTSH)) meghatározás Cobas c501 és e602 autoanalizátorral történt (Roche Ltd., Mannheim, Germany) a Debreceni Egyetem Laboratóriumi Medicina Intézetében. Az éhomi glükóz és húgysav értékét enzimatikus kolorimetriás módszerrel, a HbA1c értékét nagynyomású folyadékkromatográfiával, az sTSH értékét pedig elektrokemilumineszcenciás immunoassay-el határozták meg.

3.4. Paraoxonáz-1 aktivitás mérése

A PON1 paraoxonáz aktivitás mérését kinetikus, szemiautomatizált módszerrel végeztük. 285 µl Tris-HCl-t (100 mmol/L, pH=8,0), 2 mmol/L CaCl₂-t tartalmazó pufferben, 5,5 mmol/L paraoxon (O,O-dietil-O-p-nitrofenilfoszfát, Sigma, Magyarország) feloldása, majd 15 µl szérum hozzáadása után 405 nm-en, 25°C-on spektrofotometriás módszerrel (Greiner Bio-One GmbH, Germany) 6 percenként történt a 4-nitrofenol mennyiségének

mérése egy multimodális detektorral felszerelt Beckman Coulter DTX880 típusú leolvasó (Beckman Coulter, California, USA) segítségével. Az enzim aktivitását a paraoxonáz által elbontott paraoxon szubsztrátra jellemző moláris extinkciós koefficiens ($17\,600\text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) alapján határoztuk meg. A paraoxonáz aktivitás kifejezésére U/L mértékegységet használtunk, ahol egy egység $1\text{ }\mu\text{mol}$ szubsztrát elbomlását jelenti egy perc alatt [172].

A PON1 arilészteráz aktivitás meghatározására szintén spektrofotometriás módszert alkalmaztunk. 1 mmol/L fenilacetátot (Sigma) és 20 mmol/L Tris/HCl puffert ($\text{pH}=8,0$) tartalmazó oldatban, szérum hozzáadását követően 270 nm -en történt az abszorbancia mérése. A fenilacetát spontán hidrolízisének korrigálására szubsztrátvakot használtunk. Az enzimaktivitás $1310\text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ moláris extinkciós koefficiens segítségével került meghatározásra. Mértékegysége U/L volt, ahol egy egység $1\text{ }\mu\text{mol}$ fenilacetát elbomlását jelenti egy perc alatt [172].

3.5. A paraoxonáz-1 fenotípus meghatározása kettős szubsztrát módszerrel

A PON1 fenotípus meghatározására kettős szubsztrát módszert alkalmaztunk [173]. A $192\text{ Q}\rightarrow\text{R}$ kodon genetikai polimorfizmusának ($192.$ pozícióban Arg/Gln csere) van a legnagyobb hatása az enzim aktivitására. R allél esetén a paraoxon hidrolízise gyorsabb, mint Q allél esetén. Az R allél által meghatározott allozimet B, a Q allél által azonosítottat A típusúnak nevezzük. Ezzel ellentétben az R és Q allélek ugyanolyan arilészteráz aktivitással rendelkeznek. A só stimulálta (1 mol/l NaCl jelenlétében) paraoxon hidrolízisének és a fenilacetát hidrolízisének egymáshoz viszonyított aránya alapján az emberek három PON1 fenotípusba oszthatóak: AA (alacsony aktivitásúak), AB (közepes aktivitásúak), BB (magas aktivitásúak). A fenotípusok közötti határértékek a következők: $3,0$ alatti arány esetén AA, $3,0$ és $7,0$ között AB és $7,0$ feletti arány esetén BB fenotípusról beszélhetünk.

3.6. Az LCAT és a CETP aktivitás mérése

A LCAT és CETP aktivitását plazmából, kereskedelmi forgalomban lévő kitek (Roar Biomedical Inc.) segítségével határoztuk meg fluoreszcens spektrofotometriás módszerrel.

3.7. Enzim-kapcsolt immunszorbens vizsgálatok

Az anti-oxLDL antitestek meghatározását kereskedelmi forgalomban lévő enzim immunoassay segítségével történt (IMMCO, Buffalo, N.Y., USA) a gyártó előírásai szerint.

Az MPO, MMP-9 és a TIMP-1 koncentráció szendvics enzim-kapcsolt immunszorbens vizsgálattal (ELISA) (R&D Systems Europe Ltd., Abington, England) került meghatározásra a gyártó ajánlásának megfelelően. A vizsgálaton belüli és a vizsgálatok közötti szórástényezők a következők voltak: MPO 6,6-7,7% és 6,5-9,4%, MMP-9 1,9-2,9% és 6,9-7,9%, TIMP-1 3,9-5,0% és 3,9-4,9%.

A szérum sCD40L, sICAM-1 és sVCAM-1 szintjét kereskedelmi forgalomban lévő sandwich ELISA kitek segítségével, az alkalmazási előiratban foglaltak szerint határoztuk meg (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA). Az aszimmetrikus dimetilarginin (ADMA) szintet kompetitív ELISA módszerrel, kereskedelmi forgalomban lévő kit segítségével határoztuk meg az alkalmazási előiratban foglaltak szerint (DLD Diagnostika GmbH, Hamburg, Németország).

A szérum chemerin szint meghatározás kereskedelmi forgalomban kapható ELISA kittel (Human Chemerin Quantikine ELISA, katalógusszám: DCHM00, R&D Systems, MN, USA) történt, a gyártó használati útmutatásának megfelelően. Az intra- és interassay variációs koeficiensek <10 % illetve <12 % voltak.

A szérum afamin szint meghatározás kereskedelmi forgalomban kapható ELISA kittel (Afamin Human ELISA, katalógusszám: RD194428100R, BioVendor, NC, USA), történt, a gyártó használati útmutatásának megfelelően. Az intra- és interassay variációs koeficiensek <3.61 % illetve <3.4 % voltak.

3.8. Fehérje frakció poszt LDL-aferezis elúciója DALI 750 adszorbens oszlopról és chemerin szint meghatározás az eluátumból

Az aferezis kezelést követően, a chemerin elúcióját az aferezis oszlopról Dihazi és munkatársai által leírt módszer alapján végeztük [174]. Az aferezis kezelést követően a DALI750 adszorbens oszlopokat foszfát-pufferes sóoldattal (pH 7,4) mostuk át, majd fehérje elúciót egy három lépcsős elúciós folyamattal végeztük. Egymás után három különböző pH-jú 250 µl acetát pufferrel végeztünk az elúciót a következő sorrendben pH

5,0, pH 4,0, pH 3,0. Külön mértük a különböző pH-jú pufferekkel kapott eluátumok chemerin koncentrációját.

Az eluátumok chemerin koncentrációjának meghatározását kereskedelmi forgalomban kapható ELISA kittel (Human Chemerin DuoSet ELISA, katalógusszám: DY2324, R&D Systems, MN, USA) végeztük, a gyártó használati útmutatásának megfelelően.

3.9. NO meghatározás

A meghatározás friss plazmából Griess-reakcióval történt. A friss plazmát ZnSO_4 –tal ill. Cd-szuszpenzióval kezeltük. Centrifugálás után a felülúszót 1%-os szulfanilamid és 0,1%-os naftil-etilén-diaminnal inkubáltuk 10 percig 60°C -on. A keletkező színt 546 nm-en fotometráltuk.

3.10. TBARS meghatározás

A TBARS koncentrációt a humán plazmából szerves oldószerrel történt extrakciót követően spektrofotométerrel határoztuk meg. A plazmát SDS-sel történő előkezelés után (pH=3,5) tiobarbitursav vizes oldatával inkubáltuk 95°C-on 60 percig. Ezután n-butanol-piridin elegyével történő extrakció után a szerves fázis optikai denzitását mértük spektrofotométerrel 532 nm-en.

3.11. Plazma α - és γ -tokoferol szint meghatározása

Az α - és γ -tokoferol mennyiségi meghatározása plazma mintából Zerbinati és munkatársai által leírt módszer alapján történt [175], gázkromatográfiás-tömegspektrometriás (GC-MS) módszerrel, a mérés optimalizálásához szükséges módosításokkal.

A standard görbe elkészítéséhez a belső standard módszert alkalmaztuk. Az α - és γ -tokoferol metanolos törzsoldataiból (α -tokoferol, 1,0 mg/mL metanolban, certified reference material, γ -tokoferol 1,0 mg/mL metanolban, certified reference material, Sigma-Aldrich St. Louis, MO USA) metanollal (Sigma-Aldrich St. Louis, MO USA) hígítási sort készítettünk. A kalibrációs pontok a következők lettek: α -tokoferol: 3,13; 6,25; 12,5 és 25 $\mu\text{g/ml}$, γ -tokoferol: 0,063; 0,125; 0,25 és 0,5 $\mu\text{g/ml}$. A standard oldatokhoz belső standardként állandó mennyiségben (4 μg) adtunk 2,2,5,7,8-

Pentamethyl-6- chromanol (Sigma-Aldrich St. Louis, MO USA) metanolban oldva. A metanol nitrogén áram alatt elpárologtattuk majd 130 µl Sylon™ HTP (HMDS+TMCS+Pyridine, 3:1:9, Sigma-Aldrich St. Louis, MO, USA) szililező oldat hozzáadása után 30 percig 60 °C-on derivatizáltuk. Ezután a szililezőszert ismét nitrogén áram alatt elpárologtattuk a standardokról, melyeket ezután 50 µl n-hexánban (Merck, Darmstadt, Germany) oldottunk fel.

A plazma minták előkészítéséhez 5 µl plazmához 100 µl 2,2,5,7,8-Pentamethyl- 6-chromanol (4 µg/ml metanolban oldva) belső standardot, 100 µl metanol és 95 µl fiziológiás sóoldatot adtunk. Ezt követően az extrakcióhoz 1 ml n-hexánt adtunk a mintákhoz. A mintákat ezután alaposan vortexeltük, majd centrifugáltuk. A felülúszót ezután 1,5 ml-es mintatartó üvegekbe pipettáztuk át, majd a szerves oldószert nitrogén áram alatt elpárologtattuk. Ezután a mintákat a standardoknál leírt módon derivatizáltuk és a mintaelőkészítés végén 50 µl n-hexánban oldottuk fel.

A GC-MS mérések Finnigan Trace GC Ultra gázkromatográffal illetve az ahhoz kapcsolt Polaris Q tömegspektrométerrel történtek (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA USA). A mintákat manuálisan injektáltuk egy Agilent J&W oszlopra (DB-5MS UI; 60m x0.25m x 0.25µm) vivőgázként héliumot használva (áramlási sebesség: 1ml/min, állandó áramlás mód). Az injektálási térfogat 2 µl volt. Az injektálás splitless módban történt, az injektor hőmérséklete a mérés során végig 260 °C volt. A kolonna kezdeti hőmérséklete 150°C volt 2 percig, majd 25°C/perc felfűtési sebességgel 300°C-ra emelkedett melyet további 15 percig tartott. A teljes elemzési idő 23 perc volt. A tömegspektrométer szelektív ionkövetés (selective ion monitoring, SIM) módban működött. A választott ionok a következők voltak: α-tokoferol-TMS 237.3 m/z, γ-tokoferol- TMS 488.4 m/z, 2,2,5,7,8-Pentamethyl-6-chromanol-TMS 292.3 m/z.

3.12. Lymphocyta szeparálás perifériás vérből

A lymphocyták szeparálása buffy coat-ból történt. 500 µl teljes vért rétegeztünk 500 µl Ficoll felé, majd 15 percig centrifugáltuk (1000 g). A buffy coat-ot óvatosan leszívtuk, majd a sejteket PBS-ben mostuk, majd ismét centrifugáltuk 15 percig (1000 g).

3.13. Single cell gel electrophoresis (comet-assay)

A szeparált humán lymphocytákat 600 µl, 1%-os LMP agarózban (pH 7,4) szuszpendálva 37 °C-on érdesített felszínű üveg tárgylemezre pipettáztuk, melyet előzőleg 1% NMP agarózzal fedtünk. Az agarózt 10 percig 4 °C-on tartottuk, majd a tárgylemezeket 50 µl H₂O₂-t tartalmazó 100 ml PBS-ben inkubáltuk 35 percig. Ezután a tárgylemezeket 4°C-os lizáló pufferbe (2,5 M NaCl, 10 mM Tris, 100 mM Na₂ EDTA, NaOH, 1%, Triton X-100, pH=10,0) helyeztük 60 percre, eltávolítva ezzel a sejtfehérjéket. A lysist követően a tárgylemezeket 30 percre horizontális elektroforézis tartályba helyeztük, mely 1 mM Na₂EDTA, 0,3 M NaOH, pH=2,7 puffert tartalmazott, majd futtattuk (25 V, 300 mA, 20 perc, 15°C). A tárgylemezeket háromszor 3 percig mostuk 4°C-os neutralizáló pufferrel (0,4 M Tris-HCl, pH=7,5), 50 µl Ethidium bromiddal (EtBr) jelöltük, majd fedőlemezzel fedtük.

A comet-assay értékelése vizuális módszerrel történt. Az EtBr-al megjelölt nukleuszokat Zeiss fluorescens mikroszkóp segítségével értékeltük. Összesen 100 cometet értékeltünk vizuálisan tárgylemezenként, öt osztályba sorolva őket a csóva intenzitása alapján, így 0,1,2,3 vagy 4 értéket kaptak az éptől a maximálisan károsodottig, ezért az összérték lemezenként 0 és 400 között volt.

3.14. HDL szubfrakció meghatározás poliakrilamid gradiens gél elektroforézis alkalmazásával

A plazma lipoproteinek méret alapján történő szeparálását nem denaturáló 3-30%-os poliakrilamid gradiens gél elektroforézis alkalmazásával végeztük. A gél festését bromofenol-kékkel végeztük és lézer denzitométerrel szkenneltük. A molekulasúly meghatározása thyreoglobulin, apoferritin, laktát dehidrogenáz és bovin szérum albumin standardok alapján történt. A HDL abszorbancia profilok alapján a szubpopulációk meghatározása az illeszkedő görbéknek megfelelően az irodalomban leírtak szerint történt. A HDL3 (<8,8 nm), HDL2a (8,8-9,8 nm) és HDL2b (>9,8 nm) szubfrakciókat különítettük el a görbék alapján.

3.15. LDL-méret meghatározás poliakrilamid gradiens gél elektroforézis alkalmazásával

Az LDL csúcsátmérő meghatározása teljes plazmából, lipid-jelöléssel, nem denaturáló 3-16%-os poliakrilamid gélelektroforézissel történt. A jelölést Sudan Black-kel végeztük, majd lézerszkennelést végeztünk. Az LDL partikulumok méretét latex gyöngyök és nagy molekulásúlyú standardok segítségével határoztuk meg.

3.16. LDL szubfrakciók elválasztása Lipoprint módszerrel

Az LDL szubfrakciók elválasztását csöves poliakrilamid gélelektroforézis rendszerrel végeztük a Lipoprint rendszerrel (Quantimetrix Corp., Redondo Beach, CA), a gyártó által kiadott felhasználási útmutatónak megfelelően. LDL szubfrakciós teszt során az előre betöltött akrilamidot tartalmazó üvegcsövek felső részére 25 µl szérumból mintát vittünk fel. A mintákban lévő lipoproteinek 200 µl szudán fekete festéket tartalmazó akrilamid folyékony géllal tettük láthatóvá. 30 perces fotopolimerizálást követően a csöveket elektroforézis kádba helyeztük, amelynek alsó és felső részébe TRIS-t és bórsavat tartalmazó puffer oldatot öntöttünk, majd 3 mA/cső áramerősség és 500 V feszültség mellett a mintákat 60 percig elektroforetizáltuk. Az elektroforézis után 30 perccel digitalizáljuk a megfuttatott lipoprotein szubfrakciókat tartalmazó csöveket és analizáltuk a Lipoware szoftver (Quantimetrix Corp.) segítségével. Az LDL szubfrakciós teszt során maximálisan 7 különböző LDL szubfrakció elválasztására van lehetőség. Az elkülönített lipoproteinek méretük szerint haladnak a gélben, ezért a leggyorsabb a HDL, míg a leglassabb a VLDL lesz. A kilomikronok (amennyiben a minta tartalmazott) a felvitel helyén maradnak. Ennek eredményeként egy sáv eloszlást fogunk látni, melyben az első sáv lesz a VLDL sávja, az ezt követő 3 sáv az úgynevezett Midband, ami IDL-t és VLDL remnantokat tartalmaz, majd az LDL szubfrakciók és a HDL sávja következnek. A 7 LDL szubfrakciót két nagy csoportba különíthetjük el: a nagyméretű, kevésbé denz LDL-1 és LDL-2, valamint a kisebb és denzebb szubfrakciókból álló csoportot (LDL-3,-4,-5,-6,-7). A döntően nagyméretű, kevésbé denz LDL szubfrakciókat tartalmazó lipidprofil normál LDL profilnak, a döntően kisebb méretű, denzebb LDL szubfrakciókat tartalmazó profilat abnormális LDL lipidprofilnak tekintjük. Az egyes lipoprotein sávok koleszterin koncentrációja megadható az összkoleszterin szint és a

Lipoware szoftver által meghatározott görbe alatti terület ismeretében. Az átlagos LDL méretet (nm) a denzitogram alapján szintén a Lipoware szoftver kalkulálja.

3.17. HDL szubfrakció meghatározás Lipoprint módszerrel

A HDL szubfrakciók elválasztását szintén csöves poliakrilamid gélelektroforézis rendszerrel végeztük a Lipoprint rendszerrel (Quantimetrix Corp., Redondo Beach, CA), a gyártó által kiadott felhasználási útmutatónak megfelelően. A HDL szubfrakciós teszt kivitelezése gyakorlatilag megegyezik az LDL szubfrakciós teszttel, ebben az esetben is 25 µl szérum mintát viszünk fel az akrilamid gél tartalmazó üvegcsövekre, azonban a szudán fekete festéket tartalmazó folyékony gélterfogata 300 µl. 30 perces fotopolimerizálást követően az elektroforézis 50 percig tart 3 mA/cső áramerősség és 500 V feszültség mellett. A HDL szubfrakciós teszt kivitelezése során a leggyorsabban mozgó frakció az albumin, a leglassabban a VLDL+LDL sávja halad. A kilomikronok, az LDL teszthez hasonlóan itt is a felvitel helyén maradnak. A HDL szubfrakciós teszt során a Lipoprint rendszer 10 szubfrakciót különít el. A HDL-1,-2,-3 a nagy HDL szubfrakcióhoz, a HDL-4,-5,-6,-7 a közepes, míg a HDL-8,-9,-10 a kis HDL szubfrakcióhoz tartoznak. Az egyes HDL szubfrakciók koleszterintartalma a HDL-koleszterin ismeretében a Lipoware szoftver által meghatározott görbe alatti terület ismeretében megadható.

3.18. Az ApoE gén E2, E3, E4 polimorfizmusának meghatározása

A meghatározást a Debreceni Egyetem Laboratóriumi Medicina Intézetben végezték nátrium-citráttal alvadásgátolt vérmintából. Az ApoE genotípus meghatározás azon alapszik, hogy a különböző genotípusoknál a polimorf szakaszon különböző számú és elhelyezkedésű restrikciós enzim hasító hely található. A kimutatás a kérdéses szakasz PCR amplifikációját követően RFLP analízissel történik. A 218 bp hosszúságú PCR termék *HaeII* és *AflIII* restrikciós enzimekkel történő hasítása során keletkező fragmentumok agaróz gélelektroforézissel történő elválasztása után kapott restrikciós mintázatból az E2, E3, E4 genotípus megállapítható.

3.19. A *NPC1L1* genotípus meghatározás

A genomiális dezoxiribonukleinsav (DNS) izolálása etiléndiamintetraecetsavval (EDTA) vagy citráttal antikoagulált vérből történt a QIAamp Blood Mini Kit (Qiagen GmbH, Hilden, Germany) használatának segítségével a Laboratóriumi Medicina Intézetben.

A c.-133A>G polimorfizmus (rs17655652) jelenlétének vizsgálata a polimeráz láncreakcióval (polymerase chain reaction, PCR) amplifikált szakaszok BlnI (New England Biolabs, Ipswich, MA) segítségével végzett enzimemésztéssel történt. A *NPC1L1* gén 365 bázispár (bp) hosszúságú fragmentjének amplifikálását *NPC1L1* rs17655652F (5'- GAC CCT AGC ACC TGC GTGATGA-3') és *NPC1L1* rs17655652R (5'-GTAACGCTCGCCTGGTACACG G -3') primerek használatával végezték. Homozigóta vad típus esetén a BlnI-vel történő emésztés egy 272-bp és egy 93-bp hosszúságú restrikciós fragmentet eredményezett, míg a mutáns allélek esetében ez hiányzott.

3.20. Carotis ultrahang vizsgálatok

A carotis ultrahang vizsgálatot közvetlenül a vérvételt követően végeztük színekódolt HP Sonos 4500 (Hewlett Packard, Andover, Mass, USA) készülékkel, carotis duplex üzemmódban egy 7,5 MHz-es lineáris transzducerrel. Az átmérő és a terület csökkenését a European Carotid Surgery Trial során alkalmazott módszer szerint mértük [176]. Az arteria carotis interna szűkületét a systoles csúcs áramlási sebesség alapján kalkuláltuk. Elzáródást abban az esetben véleményyeztünk, ha nem tudtunk detektálható áramlást kimutatni szűkület magasságában és afelett [177]. Az ultrahang vizsgálatokat videomagnó segítségével rögzítettük. Az arteria carotis communis intima-média távolság mérése offline módon történt, egy független szakember által, vakon, az Atherosclerosis Risk in Communities vizsgálat protokollja szerint [178]. Az IMT mérése a jobb és bal arteria carotis communis távolabbi falán történt a carotis bulbustól 1 cm-rel proximálisan, összesen 11 mérést végeztünk 1 mm-es távolságonként. Az átlagos IMT értékét a 22 mérés eredményének átlaga alapján adtuk meg.

3.3. Statisztikai vizsgálatok

3.3.1. Statisztikai vizsgálatok az 55 évnél fiatalabb arteria carotis szűkületben szenvedő betegek vizsgálata kapcsán

A statisztikai feldolgozást Statistica for Windows version 6.1 (Statsoft, Tulsa, Okla, USA) szoftverrel végeztük. A folyamatos változók normalitás vizsgálatát a Shapiro-Wilk teszttel végeztük. A nem normál eloszlás miatt a Mann-Whitney U tesztet és a Spearman korrelációt alkalmaztuk. Azokat a folyamatos változókat, melyek az egyváltozós korrelációs vizsgálatok során szignifikánsan korreláltak az IMT-vel, egy többváltozós regressziós modellben vizsgáltuk. Az előfordulási gyakoriságokat Pearson-féle χ^2 teszttel hasonlítottuk össze. A $p < 0,05$ értéket tekintettük a szignifikancia szintjének.

3.3.2. Túlsúlyos és elhízott, lipidcsökkentővel nem kezelt betegek statisztikai elemzése

A statisztikai analízist a SASTM for WindowsTM 8.2 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) programmal végeztük. A kapott adatok eloszlásának vizsgálata Kolmogorov-Smirnov teszttel történt. Normál eloszlás esetén az adatokat átlag $\pm$ szórás (SD) formájában ábrázoltuk, nem-normál eloszlású paraméterek esetén az adatokat medián ill. alsó és felső kvartilis értékek formájában fejeztük ki. Normális eloszlás esetén a vizsgált csoportok adatainak összehasonlítása Student-féle kétmintás t-próbával történt, míg nem-normál eloszlás esetén Mann-Whitney-féle u-próbát alkalmaztunk. A vizsgált paraméterek közötti összefüggés vizsgálata Pearson korrelációs analízissel történt; a fentebb említett nem-normál eloszlású paramétereket logaritmizáltuk annak érdekében, hogy korrigálni tudjuk az aszimmetrikus eloszlásukat. Multivariációs analízis (backward-stepwise módszer) segítségével meghatároztuk az MPO szinttel legszorosabb összefüggésben álló változókat mind az egész betegcsoportban, mind a VSZ és NVSZ alcsoportokban is. A szignifikancia szintjének a $p < 0,05$ értéket választottuk.

3.3.3. Az atorvastatin kezelésben részesülő hyperlipidaemiás betegek statisztikai elemzése

A statisztikai analízishez PC SAS (6.12) programot használtunk (SAS Institute, cary NC 275313 USA). A leíró statisztika során a vizsgált paramétereket normál eloszlás esetén átlag $\pm$ SD, nem normál eloszlás esetén medián (kvartilisek) formájában adtuk meg. A

csoportok összehasonlítását Student-féle párosított t-próbával és Wilcoxon teszttel végeztük. A nem normál eloszlású paraméterek esetén a korrelációs vizsgálatok során Spearman rho tesztet alkalmaztunk. A lipidparaméterek változásának elemzését ANOVÁval végeztük. A $p < 0,05$ értéket tekintettük szignifikánsnak.

3.3.4. Statin intoleráns betegek statisztikai elemzése

A statisztikai analízis a STATISTICA (Windows 6) és az IBM Statistical Package for the Social Sciences (SPSS, 19. verzió) számítógépes programokkal történt. Az adatok eloszlásának vizsgálatára Kolmogorov-Smirnov tesztet alkalmaztunk. Normál eloszlás esetén a paraméterek közötti különbségek vizsgálata egyszempontos varianciaanalízissel történt, amit Newman-Keuls teszt használata segítségével post hoc összehasonlítás követett. Nem-normál eloszlás esetén a különbségek összehasonlítására Kruskal-Wallis és Mann-Whitney féle U próbát használtunk. Normál eloszlás során az adatokat átlag±szórás (SD) formájában ábrázoltuk, nem-normál eloszlású paraméterek esetén az adatokat medián ill. alsó és felső kvartilis értékben fejeztük ki. A $p < 0,05$ értéket tekintettük szignifikancia szintnek. A változók genotípus függésének vizsgálatára Welch-féle próbát alkalmaztunk. A különböző genotípussal és alléllal rendelkező személyek paramétereinek összehasonlítása Khí-négyzet és Fisher-féle egzakt próbával történt.

3.3.5. Statisztikai elemzés a szeletív LDL aferezis kezelés során történt vizsgálatokban

A vizsgálat statisztikai értékelését a STATISTICA version 8.0 szoftver segítségével végeztük (Statsoft Inc. Tulsa, OK, USA). Először normalitás próbát alkalmaztunk a Kolmogorov-Smirnov teszt segítségével. Normál eloszlás esetén az adatokat átlag±szórás (SD) formájában ábrázoltuk, nem-normál eloszlású paraméterek esetén az adatokat medián ill. alsó és felső kvartilis értékek formájában fejeztük ki. A betegek kezelés előtti és utáni eredményeit párosított t-próbával vizsgáltuk. A betegek kezelés előtti adatainak összehasonlítása a kontroll csoport értékeihez nem párosított t-tesztet használatával történt. A szignifikancia határa ebben az esetben is $p < 0,05$ volt. Friedman-féle ANOVA és Kendall-féle rang-korrelációs összehasonlító tesztet alkalmaztunk a különböző pH-jú pufferekkel eluált chemerin koncentrációk összehasonlítására.

4. EREDMÉNYEK

4.1. A paraoxonáz aktivitás összefüggése egyes, az érrelmeszesedés kialakulásában szerepet játszó tényezőkkel

4.1.1. A paraoxonáz aktivitás és az artéria carotis intima-méda vastagság összefüggése

A betegek és kontrollok demográfiai adatait, laboratóriumi eredményeit és klinikai jellemzőit az **6. táblázat** foglalja össze. A betegek között szignifikánsan magasabb volt a 2-es típusú diabetes mellitus, a dohányzás, az alsóvégtagi érszűkület és az iszkémiás stroke vagy TIA előfordulási aránya.

6. Táblázat. A vizsgálati populáció jellemzői és laboratóriumi paraméterei.

	kontrollok (n=30)	betegek (n=60)	p
életkor (év)	50,97 ± 3,49	50,17 ± 3,49	n.s.
Nő/férfi	15/15	36/24	n.s.
Triglicerid (mmol/l)	2,03 ± 1,51	1,68 ± 0,86	n.s.
Össz koleszterin (mmol/l)	5,65 ± 1,09	5,45 ± 0,90	n.s.
LDL-C (mmol/l)	3,53 ± 1,02	3,29 ± 0,88	n.s.
HDL-C (mmol/l)	1,31 ± 0,44	1,40 ± 0,36	n.s.
ApoAI (g/l)	1,52 ± 0,32	1,61 ± 0,30	n.s.
ApoB (g/l)	1,15 ± 0,32	1,07 ± 0,24	n.s.
Lp(a) (mg/l)	385,1 ± 522	250,7 ± 258,5	n.s.
anti-oxLDL antitest (EU/ml)	21,1 ± 22,94	19,90 ± 15,34	n.s.
Magasvérnyomás (igen/nem)	12/18	43/16	n.s.
2-es típusú diabetes mellitus (igen/nem)	1/29	5/54	0,0025
hyperlipidaemia (igen/nem)	9/21	31/29	n.s.
Dohányzás (igen/nem)	6/24	36/24	0,0003
Alkoholfogyasztás (igen/nem)	9/21	17/43	n.s.
iszkémiás szívbetegség (igen/nem)	6/24	18/42	n.s.
alsóvégtagi érszűkület (igen/nem)	1/29	15/45	0,0113
iszkémiás stroke vagy TIA (igen/nem)	2/28	29/31	0,0001
lipidcsökkentő kezelés (igen/nem)	2/28	10/50	n.s.
statin kezelés (igen/nem)	2/28	6/54	n.s.

Az értékek átlag $\pm$ SD formában vannak feltüntetve. TIA: tranzitorikus iszkémiás attack

A betegek és kontrollok PON1 paraoxonáz, só-stimulált paraoxonáz és arileszteráz aktivitása között nem találtunk szignifikáns különbséget. A betegek intima-média vastagsága azonban szignifikánsan nagyobb volt a kontrollokéhoz viszonyítva (7. táblázat).

7.táblázat. A PON1 paraoxonáz, só-stimulált paraoxonáz és arileszteráz aktivitás, valamint az intima-média vastagság a vizsgált populációban.

	kontrollok (n=30)	betegek (n=60)	p
paraoxonáz aktivitás (U/l)	126,97 $\pm$ 65,58	109,70 $\pm$ 69,26	n.s.
só-stimulált paraoxonáz aktivitás (U/l)	264,13 $\pm$ 155,40	225,71 $\pm$ 157,50	n.s.
arileszteráz aktivitás (U/l)	110,96 $\pm$ 27,22	118,66 $\pm$ 33,27	n.s.
intima-média vastagság (mm)	0,78 $\pm$ 0,13	0,92 $\pm$ 0,15	<0,001

Az értékek átlag $\pm$ SD formában vannak feltüntetve.

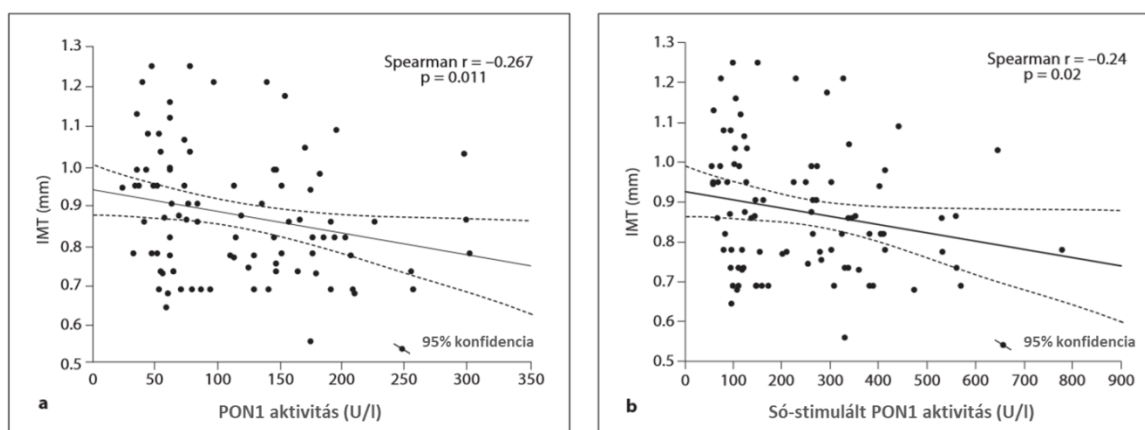
A PON1 fenotípus megoszlás és allél gyakoriság a korábbi irodalmi adatoknak megfelelő volt, és követte a Hardy-Weinberg ekviribriumot ($p < 0,05$). A betegek és kontrollok fenotípus megoszlása nem különbözött szignifikánsan ($p = 0,0935$) (8. táblázat). Mivel csak egy beteg esetén találtunk BB fenotípust, az összehasonlítást az AA és az AB fenotípusok esetén végeztük el. A PON1 fenotípus és az IMT között nem találtunk szignifikáns összefüggést ($p = 0,18$).

8.táblázat. A PON1 fenotípus megoszlás és az allélfrekvenciák a betegek és a kontrollok esetén

	kontrollok (n=30)		betegek (n=60)	
	n	%	n	%
AA	21	70	50	83,3

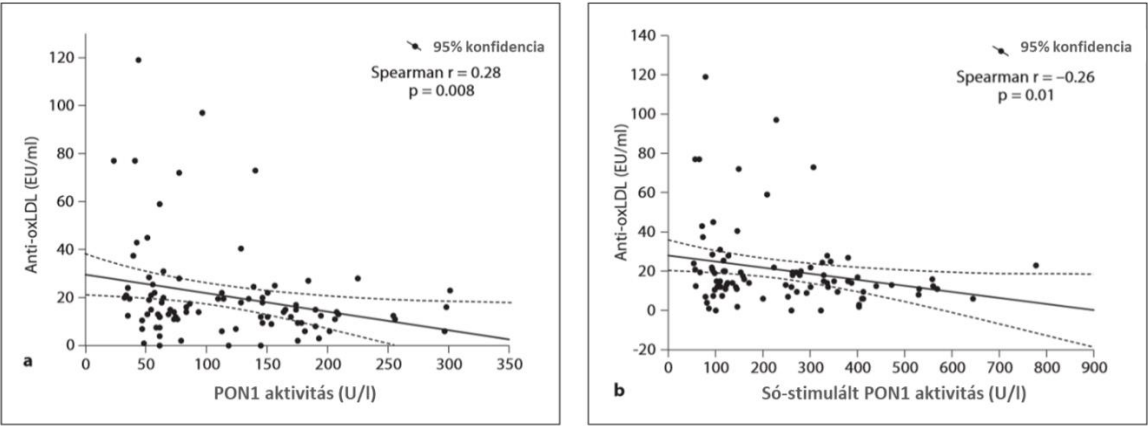
AB	8	26,7	10	16,7
BB	1	3,3	0	0
A	50	83,3	110	91,7
B	10	16,7	10	8,3

A teljes vizsgálati populációban szignifikáns negatív korrelációt találtunk a PON1 paraoxonáz és só-stimulált paraoxonáz aktivitás és az IMT között (**15. ábra**) még az egyéb tényezőkre (magasvérnyomás, dohányzás) végzett korrigálást követően is, míg az arileszteráz aktivitással nem korrelált az IMT.



15.ábra. A PON1 paraoxonáz (a) és só-stimulált paraoxonáz aktivitás (b) összefüggése a az intima-média távolsággal a teljes vizsgálati populációban.

Szignifikáns negatív korreláció igazolódott a PON1 paraoxonáz és arileszteráz aktivitás, valamint az anti-oxLDL antitest szintek között a teljes vizsgálati populációban (**16. ábra**).



16.ábra. A PON1 paraoxonáz (a) és só-stimulált paraoxonáz aktivitás (b) összefüggése az anti-oxLDL antitest szinttel a teljes vizsgálati populációban.

4.1.2. A szérum mieloperoxidáz szint és a paraoxonáz aktivitás közötti összefüggés vizsgálata

A vizsgálatba bevont, vaszkuláris szövődménnyel rendelkező és azzal nem rendelkező túlsúlyos hyperlipidaemiás betegek antropometrikus és anamnesztikus jellemzőit a **9. táblázat** tartalmazza.

9. táblázat. Vaszkuláris szövődménnyel rendelkező és azzal nem rendelkező túlsúlyos hiperlipidémiás betegek antropometrikus és anamnesztikus jellemzői. VSZ - Vaszkuláris szövődménnyel rendelkező betegek NVSZ - Vaszkuláris szövődménnyel nem rendelkező betegek, p: VSZ vs. NVSZ betegek

Paraméterek	Összes beteg	VSZ	NVSZ	p
Betegek száma	167	41	126	
Életkor (évek)	50,0(41-61)	60,49±10,05	46,93±12,40	<0,001
Nő/férfi	89/78	22/19	67/59	
BMI (kg/m ²)	28,49±5,56	29,34±3,94	28,18±6,00	n.s.
Haskőrfogat (cm)	96,04±14,60	100,07±10,15	94,35±15,42	n.s.
2-es típusú diabetes mellitus	17 (10,18%)	6 (14,63%)	11 (8,73%)	<0,01
(n)				

Magasvérnyomás (n)	59 (35,33%)	34 (82,93%)	25 (19,84%)	<0,001
Dohányzás (n)	57 (34,13%)	26 (63,41%)	31 (24,60%)	<0,001
Vaszkuláris szövődmények				
Iszkémiás szívbetegség (n)	21 (12,57%)	21 (51,22%)	0 (0%)	<0,001
Iszkémiás cerebrovaszkuláris betegség (n)	25 (14,97%)	25 (60,98%)	0 (0%)	<0,001
Perifériás artériás betegség (n)	7 (4,19%)	7 (17,07%)	0 (0%)	<0,001

A vaszkuláris szövődménnyel rendelkező betegek életkora szignifikánsan magasabbnak bizonyult, emellett gyakoribb volt a 2-es típusú diabetes mellitus, a magasvérnyomás, a dohányzás előfordulási gyakorisága a vaszkuláris szövődménnyel nem rendelkező betegekhez képest. A vaszkuláris szövődmények tekintetében a leggyakoribb a cerebrovaszkuláris betegség volt, melyet az iszkémiás szívbetegség és a perifériás érbetegség követett (**10.táblázat**).

10. táblázat. A betegek laboratóriumi paramétereit és a vizsgált biomarkerek szintje.

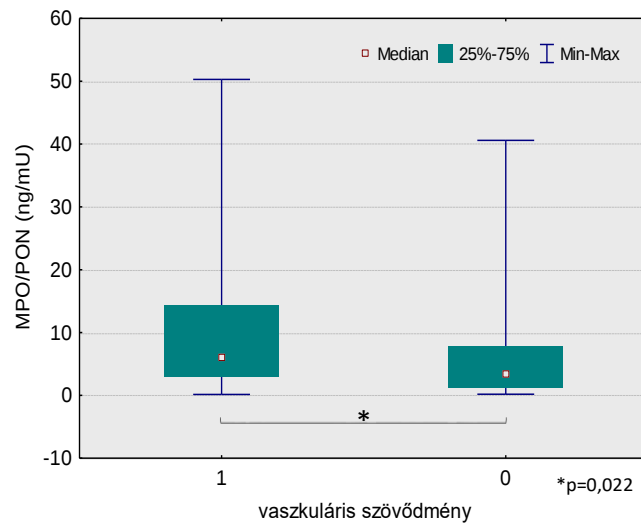
Az értékek átlag $\pm$ SD és median (kvartilisek) formájában kerültek ábrázolásra. p: VSZ vs. NVSZ betegek, n.s. – nem szignifikáns, VSZ - Vaszkuláris szövődménnyel rendelkező betegek NVSZ - Vaszkuláris szövődménnyel nem rendelkező betegek

Paraméterek	Összes beteg (n=167)	VSZ (n=41)	NVSZ (n=126)	p
Éhomi vércukor (mmol/l)	5,43 $\pm$ 1,42	5,50 $\pm$ 0,78	5,39 $\pm$ 1,58	n.s.
HbA1C (%)	5,85 $\pm$ 1,35	5,93 $\pm$ 0,91	5,82 $\pm$ 1,42	n.s.
Össz koleszterin (mmol/l)	7,09 $\pm$ 1,89	7,79 $\pm$ 2,64	6,84 $\pm$ 1,50	<0,01
LDL-C (mmol/l)	4,47 $\pm$ 1,33	4,85 $\pm$ 1,57	4,33 $\pm$ 1,22	<0,05
HDL-C (mmol/l)	1,50 $\pm$ 0,53	1,38 $\pm$ 0,54	1,54 $\pm$ 0,52	n.s.
Triglicerid (mmol/l)	1,8(1,15-3,10)	2,3(1,4-4,8)	1,6(1,10-2,80)	<0,05

Lp(a) (mg/l)	162,5(80-476)	240,5(102-436,5)	125(80-506)	n.s.
ApoAI (g/l)	1,64±0,47	1,55±0,29	1,67±0,51	n.s.
ApoB (g/l)	1,3±0,34	1,36±0,39	1,28±0,32	n.s.
hsCRP (mg/l)	2,4(1,3-5,5)	3,3(1,8-6,2)	2,2(1,20-5,30)	n.s.
Húgysav (μmol/l)	319(247-389)	361(318-392)	301(237-373)	<0,01
sTSH (mU/l)	1,7(1,1-2,64)	1,65(0,93-2,54)	1,7(1,14-2,85)	n.s.
PON1 paraoxonáz aktivitás (U/l)	89,9(58,71-191,79)	93,01(65,85-211,06)	88,2(57,07-180,43)	n.s.
PON1 arilészteráz aktivitás (U/l)	128,4(107,24-159,81)	127,45(102,0-150,88)	129,4(107,48-161,44)	n.s.
Mieloperoxidáz (mg/ml)	399,8(195,1-846,7)	728(367,25-1177,90)	315,9(176,05-687,40)	<0,001
MMP-9 (ng/ml)	504,1(337,3-713,1)	502,10(321,9-751,1)	505,4(340,20-706,0)	n.s.
TIMP-1 (ng/ml)	160,5(137,1-178,7)	172,7(157,7-197,7)	152,6(129,3-172,3)	<0,0001
MMP-9/TIMP-1	3,37(2,17-4,88)	3,02(1,95-4,22)	3,50(2,34-5,20)	<0,0001

A vaszkuláris szövődménnyel rendelkező betegeknél szignifikánsan magasabb összkoleszterin, LDL-C, triglicerid és húgysav szintet észleltünk. Emellett szignifikánsan magasabb MPO szint, TIMP-1 szint és szignifikánsan alacsonyabb MMP-9/TIMP-1 arány igazolódott a vaszkuláris szövődménnyel rendelkező csoportban a szövődménnyel nem rendelkezőkhöz képest.

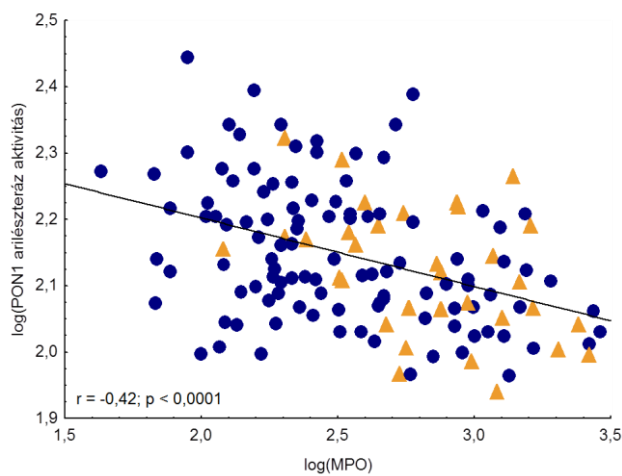
Szignifikánsan magasabb volt az MPO/PON1 arány a vaszkuláris szövődménnyel rendelkező betegekben az azzal nem rendelkező betegekhez viszonyítva (*17. ábra*).



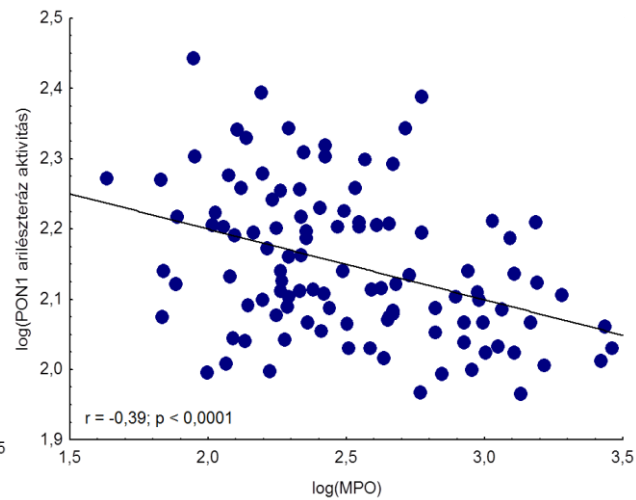
17.ábra. Az MPO/PON1 arány a vaszkuláris szövődménnyel rendelkező (1) és azzal nem rendelkező csoportban (0)

A mieloperoxidáz szintje szignifikáns negatív korrelációt mutatott a PON1 arileszteráz aktivitással a teljes betegpopulációban (a), a vaszkuláris szövődménnyel nem rendelkező (b) és rendelkező (c) betegekben egyaránt (**18. ábra**)

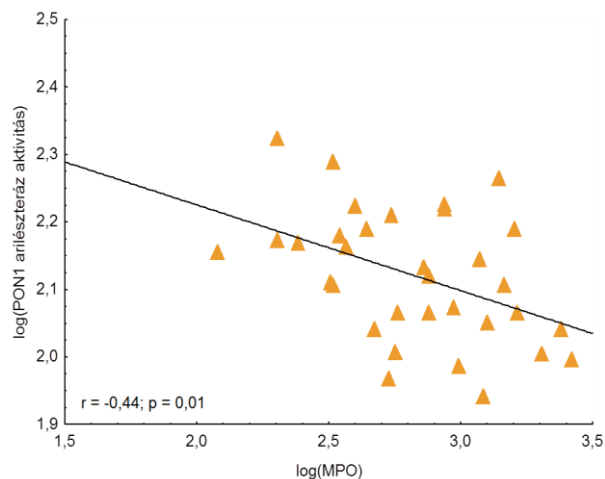
1.



(b)



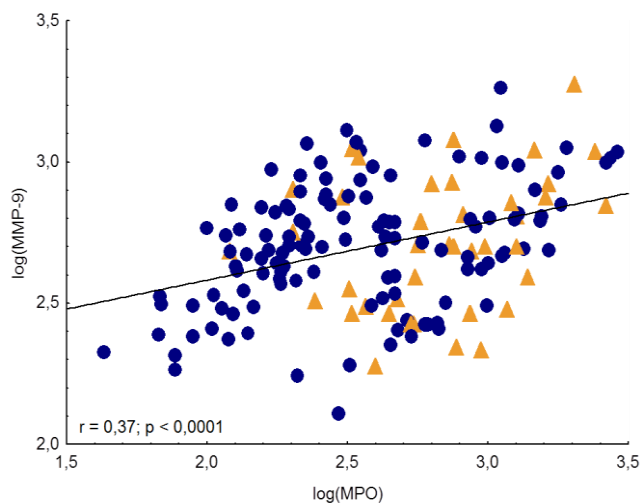
(c)



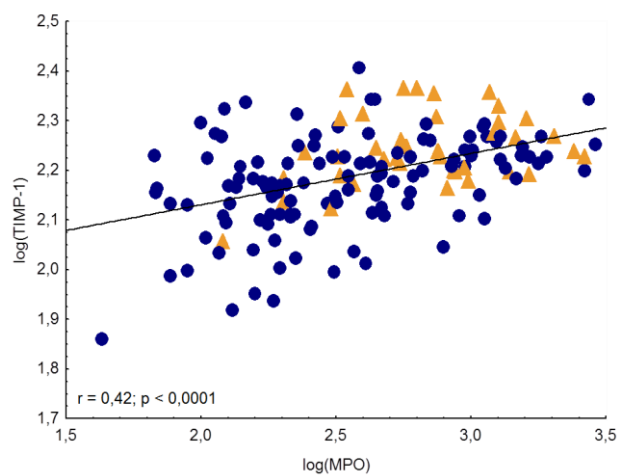
18.ábra: Pearson-féle korreláció az MPO szint és a PON1 arilészteráz aktivitás között az egész betegcsoportot vizsgálva (A; $r = -0,42$, $p < 0,0001$), a NVSZ betegekben (B; $r = -0,39$, $p < 0,0001$) és a VSZ betegekben (C; $r = -0,44$, $p = 0,01$). Az MPO szintek és a PON1 arilészteráz aktivitás logaritmizált formában vannak feltüntetve az ábrán. ▲ VSZ betegek, ● NVSZ betegek

Az MPO szint szignifikáns pozitív korrelációt mutatott az MMP-9 és a TIMP-1 szintekkel a teljes vizsgált betegcsoportban (**19. ábra**).

(a)



(b)



19. ábra Pearson-féle korreláció az MPO és az MMP-9 szint között (A; $r=0,37$, $p<0,0001$); illetve az MPO és a TIMP-1 szint között (B; $r=0,42$, $p<0,0001$) az egész betegcsoportot vizsgálva. Az MPO, az MMP-9 és a TIMP-1 szintek logaritmizált formában vannak feltüntetve. ▲ VSZ betegek, ● NVSZ betegek

Többszörös regressziós analízist végezve az összes beteg és a vaszkuláris szövődménnyel nem rendelkező betegek esetén az MPO szint független prediktora a PON1 arilészteráz aktivitás, az MMP-9 és a TIMP-1 szint, míg a vaszkuláris szövődménnyel rendelkező betegek esetén a PON1 arilészteráz aktivitás volt (**11. táblázat**).

11. táblázat: Többszörös regressziós analízis (a függő változó az MPO szint)

Változó	β	p
Összes beteg		
PON1 arilészteráz aktivitás	-0,350	<0,0001
MMP-9	0,315	<0,0001
TIMP-1	0,292	<0,0001
VSZ betegek		
PON1 arilészteráz aktivitás	-0,570	<0,05
NVSZ betegek		
PON1 arilészteráz aktivitás	-0,330	<0,0001
MMP-9	0,351	<0,0001
TIMP-1	0,262	<0,0001

4.1.3. A szérumbeloxáz szint, a paroxonáz aktivitás és egyes vaszkuláris biomarkerek szintje közötti összefüggés vizsgálata

A hyperlipidaemiás betegek szignifikánsan idősebbek voltak, átlagosan több mint 8,5 évvel, BMI értékük és haskörfogatuk nők és férfiak esetén is nagyobb volt, mint az egészséges kontroll populációé. Emellett szignifikánsan magasabb haskörfogat, szérumbeloxáz, HbA1c, összkoleszterin, LDL-C, triglicerid, ApoB és CRP szinttel rendelkeztek, míg nem volt különbség a nemek megoszlásában, a HDL-C, az ApoA1 és a sTSH szintekben (**12. táblázat**).

12. táblázat. A kezeltlen hyperlipidaemiás betegek és egészséges kontroll személyek demográfiai, antropometriai és klinikai adatai

	Hiperlipidémiás betegek	Egészséges kontroll-csoport	p
Betegek száma	167	32	
Kor	50,42±13,24	41,78±5,97	<0,01
Nő/férfi	89/78	22/10	ns
BMI (kg/m²)	28,48±5,56	24,47±2,5	<0,01
Haskőrfogat (cm)			
nő	90,76±13,2	85,72±6,6	<0,05
férfi	103,7±13,2	92,75±7,6	<0,05
Glükóz (mmol/l)	5,2 (4,8-5,6)	4,8 (4,6-5,1)	<0,01
HbA1c (%)	5,45 (5,2-65,9)	5,1 (4,8-5,3)	<0,01
Összkoleszterin (mmol/l)	7,09±1,89	5,07±0,78	<0,01
LDL-C (mmol/l)	4,47±1,33	2,92±0,51	<0,01
HDL-C (mmol/l)	1,49±0,53	1,55±0,46	ns
Triglicerid (mmol/l)	1,75 (1,1-3,1)	1,2 (0,8-1,4)	<0,01
Lipoprotein(a) (mg/l)	163 (80-476)	190,7 (30-214)	<0,01
Apolipoprotein A1 (g/l)	1,61±0,29	1,68±0,31	ns
Apolipoprotein B (g/l)	1,36±0,34	0,94±0,18	<0,01
CRP (mg/l)	2,07 (1,0-4,6)	2,0 (0,6-2,9)	<0,05
sTSH (mU/l)	2,0±1,32	1,94±1,1	ns

A hyperlipidaemiás betegek mieloperoxidáz, sCD40L, sICAM-1, sVCAM-1 és oxLDL szintje szignifikánsan magasabb volt a kontroll populációhoz viszonyítva, míg nem találtunk különbséget a betegek és kontrollok PON1 paraoxonáz és arileszteráz aktivitása és az ADMA szintje között (**13. táblázat**)

13. táblázat. A vizsgálatba bevont egyének gyulladásos, oxidatív és egyéb paraméterei

	Hiperlipidémiás betegek	Egészséges kontroll-csoport	p
Mieloperoxidáz (ng/ml)	400 (195-847)	205 (125-257)	<0,01
PON1 paraoxonáz aktivitás (U/l)	90 (59-192)	83 (48-167)	ns
PON1 arilészteráz aktivitás (U/l)	133 (116-161)	127 (110-160)	ns
sCD40L (ng/ml)	9,9 (7,5-14,1)	8,5 (6,8-10,9)	<0,05
ADMA (μmol/l)	0,66±0,18	0,65±1,15	ns
sVCAM-1 (ng/ml)	639 (553-741)	450 (380-556)	<0,01
sICAM-1 (ng/ml)	252 (225-284)	219 (201-231)	<0,01
oxidált LDL (U/l)	58,2±14,2	41,1±9,6	<0,05

A vaszkuláris szövődménnyel rendelkező betegek életkora, glükóz, HbA1c, összkoleszterin, LDL-C, triglicerid, Lp(a), CRP és húgysav szintje szignifikánsan magasabb volt, mint a vaszkuláris szövődménnyel nem rendelkező betegeké. Nem találtunk különbséget a nemek megoszlásában, a BMI, a haskörfogot, a HDL-C, az ApoA1, ApoB és sTSH szintek tekintetében (**14. táblázat**).

14. táblázat. Vaszkuláris szövődménnyel rendelkező és nem rendelkező hiperlipidémiás betegek demográfiai, antropometriai és klinikai adatai

	Vaszkuláris szövődménnyel rendelkező betegek	Vaszkuláris szövődménnyel rendelkező betegek	p nem
Betegszám	41	126	
Kor	60,49±10,0	47,08±12,5	<0,01
Nő/férfi	22/19	67/59	ns
BMI (kg/m ²)	29,34±3,93	28,18±6,0	ns
Haskörfogot (cm)			
nő	96,2±8,6	89,1±13,9	ns
férfi	106,1±11,0	102,7±14,1	ns
Glükóz (mmol/l)	5,4 (5,1-5,8)	5,1 (4,7-5,4)	<0,01
HbA1C (%)	5,7 (5,6-6,0)	5,3 (5,1-5,8)	<0,01
Összkoleszterin (mmol/l)	7,79±2,64	6,83±1,51	<0,01
LDL-C (mmol/l)	4,85±1,57	4,32±1,22	<0,05

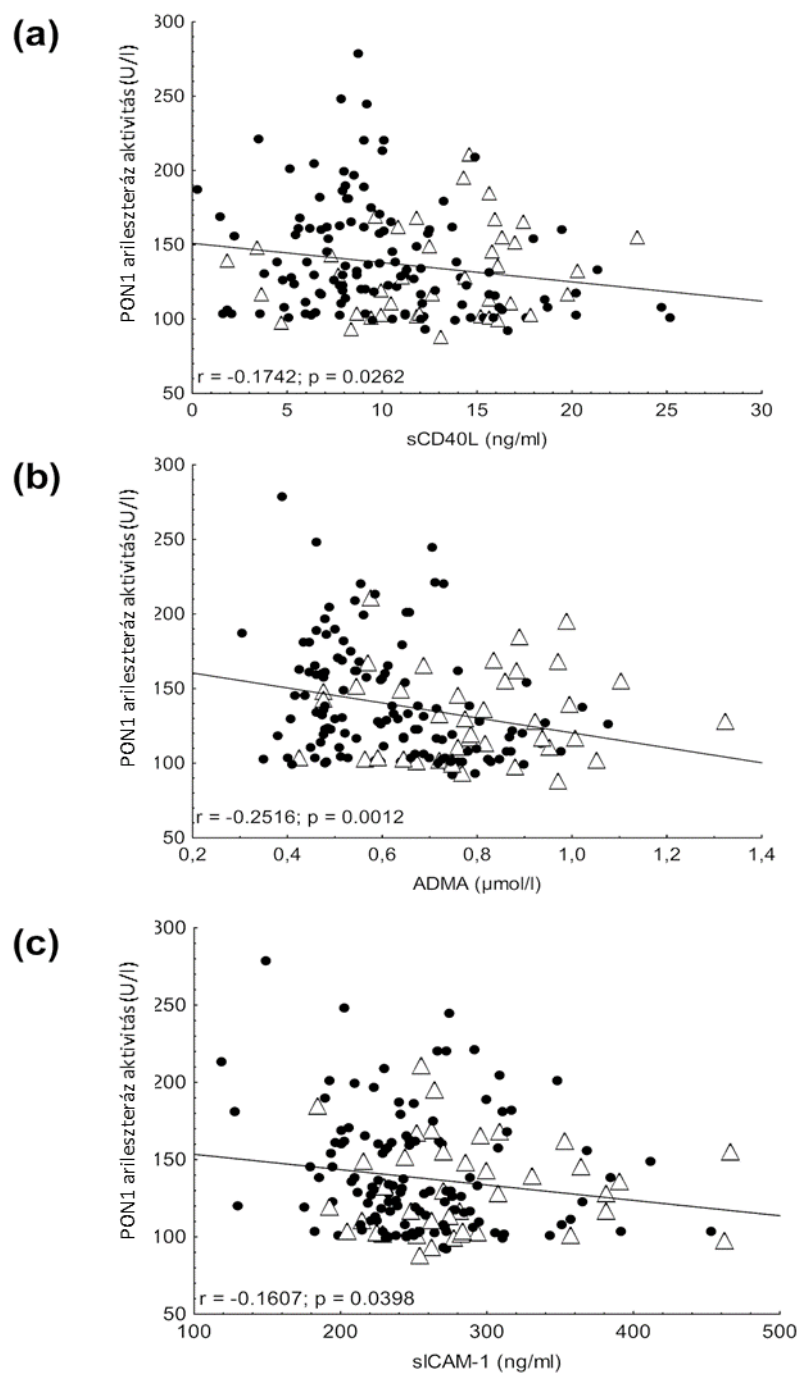
HDL-C (mmol/l)	1,38±0,54	1,52±0,51	ns
Triglicerid (mmol/l)	2,3 (1,4-4,8)	1,6 (1,1-2,8)	<0,05
Lipoprotein(a) (mg/l)	240,5 (102-436,5)	125,0 (67-506)	<0,05
Apolipoprotein A1 (g/l)	1,55±0,29	1,67±0,51	ns
Apolipoprotein B (g/l)	1,36±0,39	1,28±0,32	ns
CRP (mg/l)	3,3 (1,8-6,2)	1,9 (0,9-3,9)	<0,01
Húgysav (μmol/l)	360,6±94,5	310,6±96,6	<0,05
sTSH (mU/l)	1,82±1,2	2,07±1,4	ns

A vaszkuláris szövődménnyel rendelkező betegek esetében szignifikánsan magasabb MPO, sCD40L, ADMA és sICAM-1 szintet mértünk a vaszkuláris szövődménnyel nem rendelkezőkhöz viszonyítva. A PON1 paraoxonáz és arilészteráz aktivitás, sVCAM-1 és oxLDL szintje nem különbözött szignifikánsan a két csoportban (**15. táblázat**).

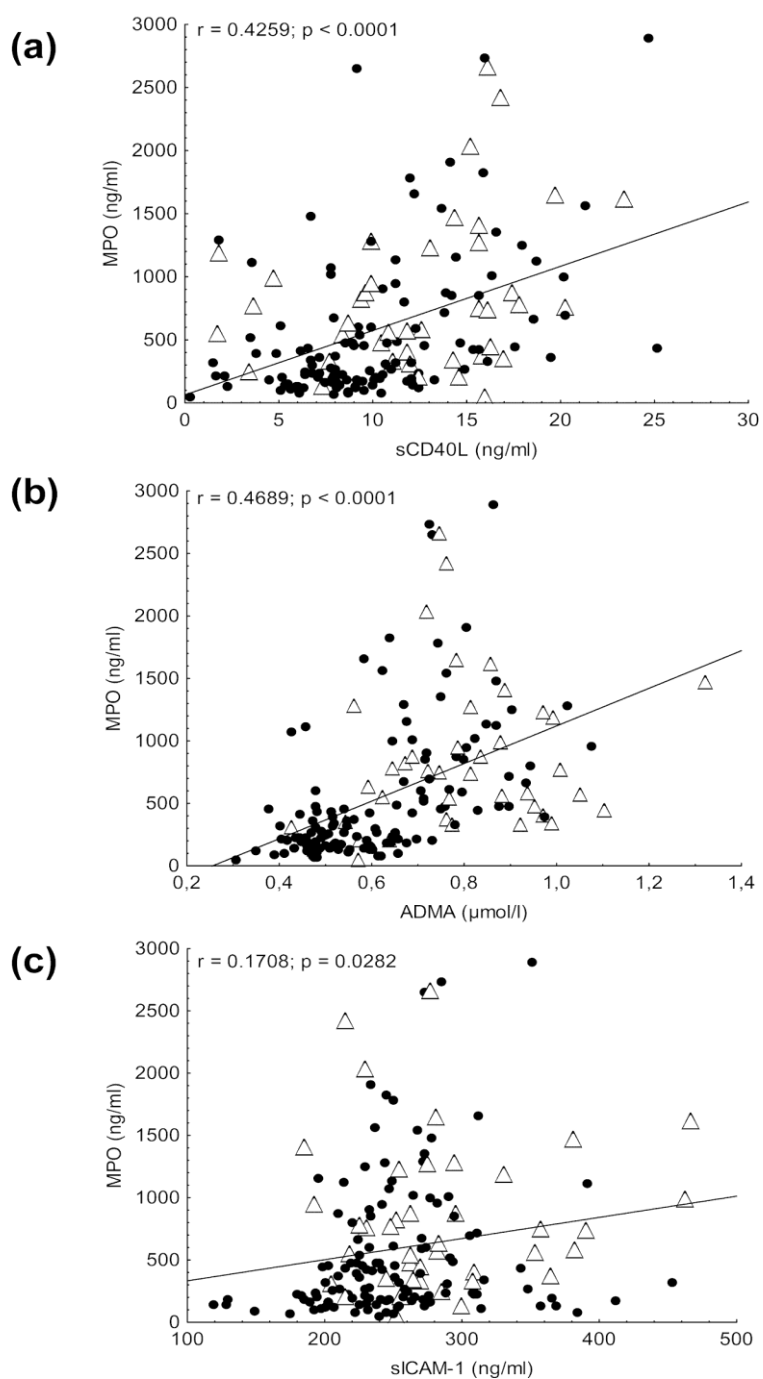
15. táblázat. Vaszkuláris szövődménnyel rendelkező és nem rendelkező hiperlipidémiás betegek gyulladásos, oxidatív és egyéb paraméterei

	Vaszkuláris szövődménnyel rendelkező betegek	Vaszkuláris szövődménnyel rendelkező betegek	p nem
Mieloperoxidáz (ng/ml)	728,8 (367-1178)	315,9 (176-687)	<0,001
PON1 paraoxonáz aktivitás (U/l)	93,0 (66-211)	88,2 (57-180)	ns
PON1 arilészteráz aktivitás (U/l)	127,5 (102-151)	129 (107-161)	ns
sCD40L (ng/ml)	12,65 (9,65-16,0)	9,2 (6,83-12,45)	<0,001
ADMA (μmol/l)	0,79±0,19	0,62±0,159	<0,001
sVCAM-1 (ng/ml)	668,5 (588-731)	634,2 (545-748)	ns
sICAM-1 (ng/ml)	270,7 (248-308)	245,2 (223-274)	<0,001
oxidált LDL (U/l)	57,5±15,6	59,1±12,6	ns

A PON1 arilészteráz szint szignifikáns negatív korrelációt mutatott a sCD40L, az ADMA és a sICAM-1 szintjével a teljes betegcsoportban (**20. ábra**). Az MPO szintjével szignifikáns pozitív korrelációt mutatott a sCD40L, az ADMA és a sICAM-1 szintje a teljes betegcsoportban (**21. ábra**).



20. ábra. A PON1 arilészteráz aktivitás összefüggése a (a) sCD40L, (b) az ADMA és (c) a sICAM-1 szérumszintjével. Δ: vaszkuláris szövődménnyel rendelkező betegek; •: vaszkuláris szövődménnyel nem rendelkező betegek



21. ábra. Az MPO szint összefüggése a (a) sCD40L, (b) az ADMA és (c) a sICAM-1 szérum szintjével. Δ : vaszkuláris szövődménnyel rendelkező betegek; $\bullet$: vaszkuláris szövődménnyel nem rendelkező betegek

4.1.4. A szérumbioloperoxidáz szint, a paraoxonáz aktivitás és a HDL szubfrakciók közötti összefüggés vizsgálata

81 kezeletlen hyperlipidaemiás beteg és 32 egészséges kontroll személynél vizsgáltuk a lipid paramétereket, a bioloperoxidáz szintet, a PON1 paraoxonáz és arilészteráz aktivitást és az MPO/PON1 arányt. Emellett meghatároztuk a HDL szubfrakciók szintjét és arányát a vizsgált populációban.

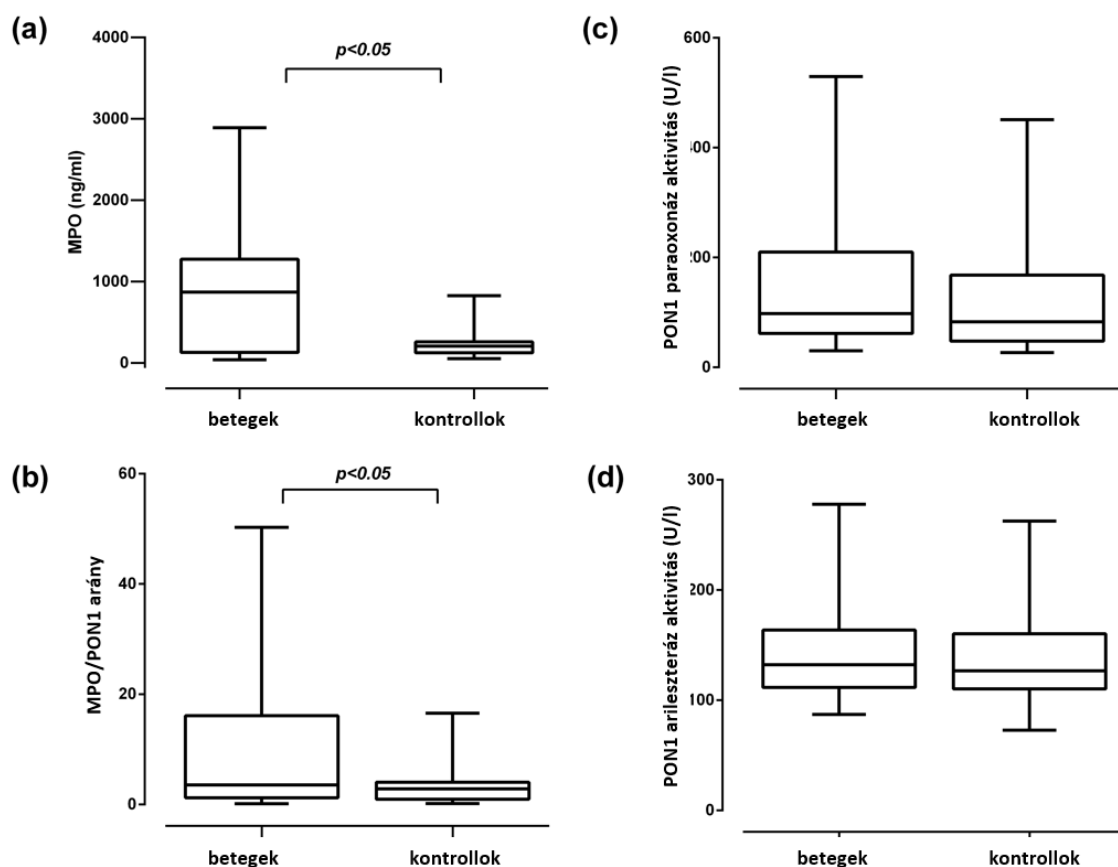
A betegek életkora, BMI és haskörfogot értéke szignifikánsan magasabb volt. Szignifikánsan magasabb vércukor, HbA1c, összkoleszterin, LDL-C, triglicerid, Lp(a), ApoB és CRP szinteket észleltünk a betegekben a kontrollokhoz viszonyítva (**16. táblázat**).

16. táblázat. A betegek és kontrollok klinikai adatai és laboratóriumi paraméterei

	betegek	kontrollok	p
betegszám	81	32	
életkor (év)	48,9±14,3	41,8±5,9	<0,01
nem (nő/férfi)	49/32	19/13	ns.
BMI (kg/m²)	28,1±5,0	24,5±2,5	<0,01
haskörfogot (cm)			
nők	89,4±1,2	85,7±6,6	<0,05
férfiak	101,7±11,2	92,75±7,6	<0,05
vércukor (mmol/L)	5,1 (4,8-5,5)	4,8 (4,6-5,1)	<0,01
HbA1C (%)	5,4 (5,2-5,9)	5,1 (4,8-5,3)	<0,01
összkoleszterin (mmol/L)	7,07±1,69	5,07±0,78	<0,01
LDL-C (mmol/L)	4,52±1,43	2,92±0,51	<0,01
HDL-C (mmol/L)	1,56±0,54	1,55±0,46	ns.
triglicerid (mmol/L)	1,6 (1,1-3,0)	1,2 (0,8-1,4)	<0,01
Lipoprotein(a) (mg/L)	191 (77-587)	70 (30-214)	<0,01
Apolipoprotein A1 (g/L)	1,71±0,59	1,68±0,31	ns.
Apolipoprotein B (g/L)	1,33±0,37	0,94±0,18	<0,01
hsCRP (mg/L)	2,4 (1,0-45,3)	2,0 (0,6-2,9)	<0,05

sTSH (mU/L)	2,1±1,29	1,94±1,1	ns.
mieloperoxidáz (ng/mL)	869(131-1272)	205(125-257)	<0,05
PON1 paraoxonáz aktivitás (U/L)	98(62-210)	83(48-167)	ns.
PON1 arilészteráz aktivitás (U/L)	132(112-162)	127(110-160)	ns.
mieloperoxidáz/paraoxonáz (ug/U)	3,56(1,28-16,03)	2,81(0,89-4,03)	<0,05

A szérumban MPO szintje szignifikánsan magasabb volt a betegekben, míg a PON1 paraoxonáz és arilészteráz aktivitásában nem találtunk szignifikáns különbséget a betegek és a kontrollcsoport között. Mind az MPO szint, mind a PON1 aktivitások esetén igen nagy egyéni különbségek mutatkoztak a betegek és a kontrollcsoport esetében is. A HDL funkció jellemzésére használt MPO/PON1 hányados szignifikánsan magasabb volt a betegekben a kontrollcsoporthoz viszonyítva (22. ábra).



22. ábra. A betegek és kontrollcsoportok mieloperoxidáz szintje (a), MPO/PON1 hányadosa (b), paraoxonáz aktivitása (c) és arilészteráz aktivitása.

Sem a HDL szubfrakciók szintjében, sem azok százalékos arányában nem találtunk érdemi eltérést a betegek és kontrollok között, bár a betegek esetén a kisebb HDL szubfrakciók felé tapasztaltunk némi eltolódást. Egyedül az intermedier HDL százalékos aránya volt szignifikánsan alacsonyabb a betegekben a kontrollokhoz képest **(17. táblázat)**.

17. Táblázat. A HDL szubfrakciók mennyisége és aránya a betegekben és kontrollokban.

	betegek	kontrollok	p
HDL szubfrakció koncentrációk			
nagy HDL (mmol/l)	0,42 (0,27-0,67)	0,45 (0,31-0,61)	ns.
közepes HDL (mmol/l)	0,73 (0,59-0,87)	0,75 (0,66-0,85)	ns.
kis HDL (mmol/l)	0,34 (0,23-0,43)	0,28 (0,25-0,34)	ns.
HDL szubfrakció arányok			
nagy HDL (%)	29,7 (21,5-35,4)	31,6 (24,4-34,6)	ns.
közepes HDL (%)	48,3 (45-51,4)	51,5 (48,3-54,3)	<0,05
kis HDL (%)	21,6 (16,4-26,6)	18,4 (15,5-22,5)	ns.

Az értékek medián (alsó-felső kvartilis) formában vannak megadva. Ns: nem szignifikáns.

4.2. Az atorvastatin kezelés hatása a HDL funkcióra és összetételre

4.2.1. Az atorvastatin kezelés hatásának vizsgálata a paraoxonáz aktivitásra és a Comet assay-vel detektált oxidatív DNS-károsodásra

13 IIa típusú hyperlipidaemiás betegben vizsgáltuk a 10 mg/nap atorvastatin kezelés hatását a Comet assay-vel detektált hidrogén-peroxid indukált limfocita DNS károsodás mértékére, a lipidszintekre és a szérum paraoxonáz aktivitásra.

A 6 hónapig tartó napi 10 mg atorvastatin kezelés szignifikánsan csökkentette a betegek összkoleszterin és LDL-C szintjét. A szérum triglicerid és a HDL-C szint nem változott szignifikánsan. A DNS károsodás mértékére jellemző visual score, valamint a lipid peroxidáció szintjét jelző plazma TBARS szint szignifikánsan csökkent a kezelés hatására. Bár a szuperoxid anion szérum szintje nem változott szignifikánsan, a PMA indukálta szuperoxid anion termelés szignifikánsan csökkent, míg az FMLP indukált szuperoxid anion termelés szignifikánsan nőtt a kezelést követően. A nitrogén-monoxid koncentráció nem változott szignifikánsan (**18. táblázat**).

18. Táblázat. A betegek laboratóriumi paraméterei az atorvastatin kezelés előtt és után.

	kezelés előtt	kezelés után	p
összkoleszterin (mmol/l)	7,76 ± 0,98	4,30 ± 0,74	<0,001
LDL-C (mmol/l)	5,37 ± 0,95	2,24 ± 0,73	<0,001
HDL-C (mmol/l)	1,49 ± 0,29	1,37 ± 0,21	ns.
triglicerid (mmol/l)	2,13 ± 0,79	1,60 ± 0,53	ns.
szuperoxid anion (nmol/106 sejt/perc)	1,98 ± 2,89	2,13 ± 0,95	ns.
PMA indukált SA (nmol/106 sejt/perc)	6,62 ± 2,53	3,91 ± 3,39	<0,01
FMLP indukált SA (nmol/106 sejt/perc)	2,43 ± 0,87	4,21 ± 1,76	<0,01
TBARS (μmol/l)	1,00 ± 0,26	0,79 ± 0,20	<0,05
plazma NO (μmol/l)	0,45 ± 0,43	0,62 ± 0,58	ns.
Visual score (Comet assay)	348,81 ± 33,91	318,50 ± 28,29	<0,05

Az értékek átlag ± SD formában vannak megadva. ns: nem szignifikáns.

LDL: low-density lipoprotein; HDL: high-density lipoprotein; FMLP: formil-MET-Leu-Phe; PMA: forbolmirisztát acetát; SA: szuperoxid anion, TBARS: tiobarbitursav reaktív anyagok

A szérumban PON1 paraoxonáz aktivitás, valamint az egységnyi HDL-re jutó PON1 aktivitás (PON1/HDL-C) szignifikáns emelkedését tapasztaltuk a kezelést követően. A só-stimulált paraoxonáz és arileszteráz aktivitás, valamint a PON1 koncentráció nem változott szignifikánsan a kezelés hatására (**19. táblázat**)

19. Táblázat. A PON1 paraoxonáz, só-stimulált paraoxonáz és arileszteráz aktivitás, a PON1 koncentráció és a PON1/HDL-C arány az atorvastatin kezelés előtt és után.

	kezelés előtt	kezelés után	p
paraoxonáz aktivitás (U/l)	86,8 (70-153)	119,7 (86-167)	<0,05
só-stimulált paraoxonáz aktivitás (U/l)	134,2 (100-306)	129,4 (99-344)	ns.
arileszteráz aktivitás (U/l)	78,3 (26-103)	62,2 (48-103)	ns.
PON1 koncentráció (ug/ml)	42,13 ± 7,78	40,75 ± 8,15	ns.
PON1/HDL-C	64,3 (39-103)	69,9 (58-141)	<0,05

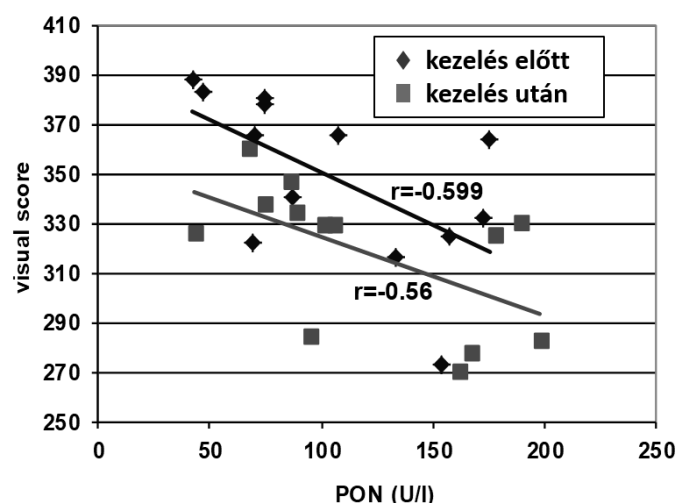
Az értékek medián (alsó-felső kvartilis) és átlag ±SD formában vannak megadva. ns: nem szignifikáns.

Negatív korreláció igazolódott a DNS károsodás mértéke és a PON1 paraoxonáz és só-stimulált paraoxonáz aktivitás között mind az atorvastatin kezelés előtt, mind a kezelést követően (**20. táblázat, 23. ábra**).

20. táblázat. A DNS károsodás comet-assay-vel detektált mértéke (visual score) és a PON1 paraoxonáz, só-stimulált paraoxonáz és arileszteráz aktivitás közötti korrelációk az atorvastatin kezelés előtt és után.

	kezelés előtt		kezelés után	
	r	p	r	p
paraoxonáz aktivitás (U/l)	-0,59	<0,05	-0,56	<0,05
só-stimulált paraoxonáz aktivitás (U/l)	-0,53	<0,05	-0,51	<0,05
arileszteráz aktivitás (U/l)	0,03	ns.	-0,09	ns.

ns: nem szignifikáns



23. ábra. A PON1 paraoxonáz aktivitás és a comet assay során detektált visual score értékek közötti korreláció az atorvastatin kezelés előtt és után.

4.2.2. Az atorvastatin kezelés hatásának vizsgálata a HDL szubfrakciókra és a HDL-hez kötött enzimek (PON1, LCAT és CETP) aktivitására

33 IIa és IIb típusú hyperlipidaemiában szenvedő betegben vizsgáltuk az LDL méretet és a HDL szubfrakciók megoszlását gradiens gél elektroforézis alkalmazásával három hónapos, napi 20 mg-os atorvastatin kezelés előtt és azt követően. Emellett spektrofotometriás módszerrel CETP, LCAT és PON1 aktivitás méréseket végeztünk. A betegek klinikai jellemzőit és laboratóriumi paramétereit az atorvastatin kezelés előtt és után a **21. táblázat** mutatja be.

A kezelés hatására szignifikánsan csökkent az összkoleszterin, LDL-C, triglicerid és ApoB szint, valamint az LDL-C/ApoB arány. Bár a HDL-C és apoA1 szintek kissé emelkedtek, a változás nem bizonyult szignifikáns mértékűnek. Az oxidált LDL szintje szignifikánsan csökkent. A PON1 paraoxonáz és LCAT aktivitást szignifikánsan növelte a kezelés, míg a CETP aktivitás szignifikánsan csökkent. Nem változott azonban a kezelés hatására a PON1 arileszteráz aktivitás.

21. táblázat. A betegek klinikai jellemzői és laboratóriumi paraméterei az atorvastatin kezelés előtt és után.

n	33			
életkor (év)	62,8 ± 5,8			
nem (férfi/nő)	16/17			
BMI (kg/m²)	27,2 ± 2,9			
	kezelés előtt	kezelés után	változás (%)	p
összkoleszterin (mmol/l)	6,68 ± 0,51	4,57 ± 0,78	-31,6	<0,001
triglicerid (mmol/l)	1,75 ± 0,77	1,21 ± 0,31	-30,9	<0,001
HDL-C (mmol/l)	1,49 ± 0,29	1,43 ± 0,31	4,0	ns.
LDL-C (mmol/l)	4,39 ± 0,51	2,66 ± 0,54	-39,4	<0,001
ApoA1 (g/l)	1,65 ± 0,24	1,65 ± 0,21	0,0	ns.
ApoB (g/l)	1,40 ± 0,24	0,88 ± 0,16	-45,0	<0,001
LDL/ApoB	3,32 ± 0,63	2,94 ± 0,40	-11,4	<0,001
oxLDL (U/l)	60,5 ± 15,9	32,7 ± 9,4	-46,0	<0,001
paraoxonáz aktivitás (U/l)	120 ± 84	126 ± 41	5,0	<0,001
arileszteráz aktivitás (U/l)	81 ± 37	93 ± 18	14,8	ns.
LCAT aktivitás (mmol/ml/h)	37 ± 19	47 ± 18	27,0	<0,01
CETP aktivitás (pmol/ml/h)	151 ± 11	143 ± 9	-5,3	<0,001

Az értékek átlag ± SD formában vannak megadva.

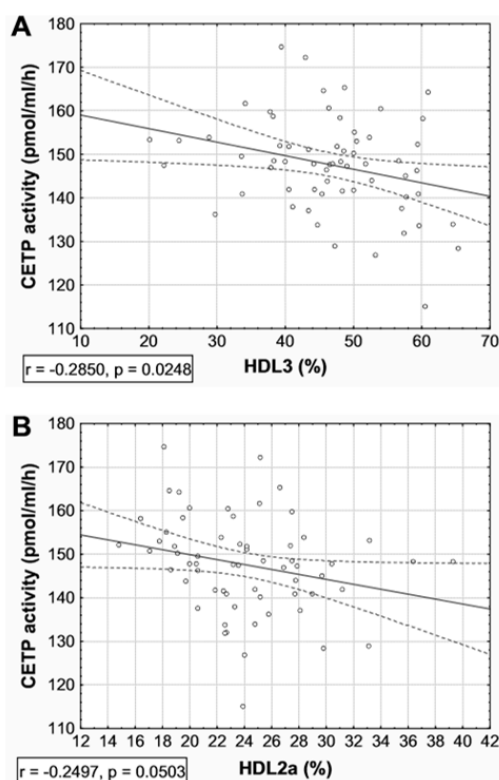
A 3 hónapos atorvastatin kezelés szignifikánsan növelte a HDL3 és csökkentette a HDL2a és HDL2b szubfrakció arányát. A HDL2/HDL3 arány szignifikánsan csökkent. Az átlag LDL méret szignifikánsan nőtt (**22. táblázat**).

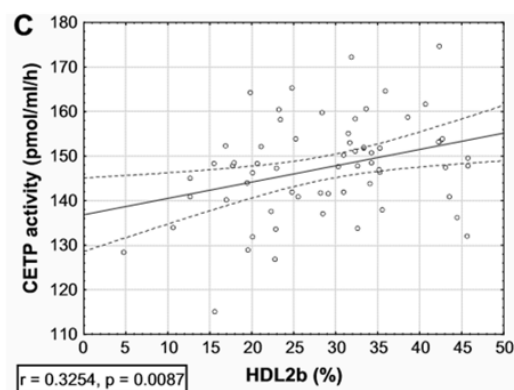
22. táblázat. Az LDL partikulum méret és a HDL szubfrakciók arányának százalékos megoszlása az atorvastatin kezelés előtt és után.

	kezelés előtt	kezelés után	változás (%)	p
LDL méret (nm)	27,0 ± 0,85	27,9 ± 0,72	3,29	<0,001
HDL3 (%)	42,3 ± 9,73	50,8 ± 9,06	8,13	<0,001
HDL2a (%)	24,9 ± 5,11	23,4 ± 5,0	-1,57	<0,01
HDL2b (%)	32,2 ± 8,76	26,0 ± 9,81	-6,55	<0,001
HDL2/HDL3	1,48 ± 0,72	1,06 ± 0,41	-28,7	<0,001

Az értékek átlag ± SD formában vannak megadva.

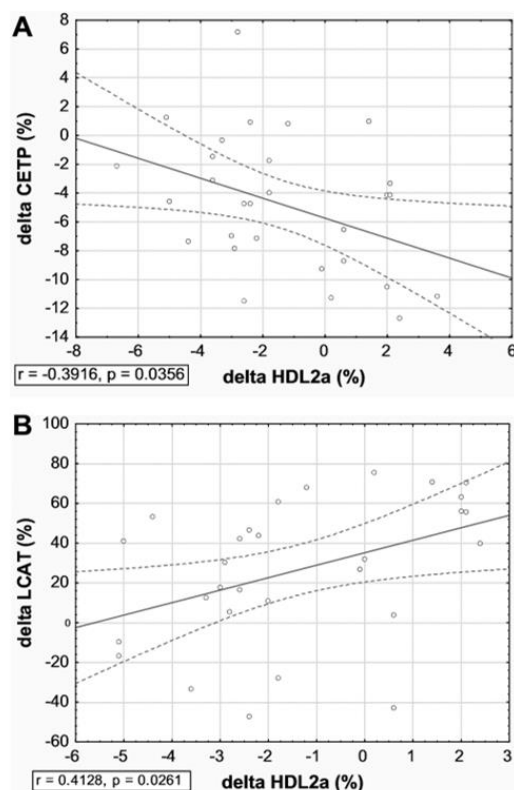
A CETP aktivitás szignifikánsan, pozitívan korrelált a HDL2b aránnyal és negatívan korrelált a HDL3 and HDL2a arányával (**24. ábra**).





24. ábra. A CETP aktivitás és a HDL3 (A), HDL2a (B) és HDL2b (C) szubfrakciók százalékos megoszlása közötti korrelációk a kezelés előtti és utáni értékek alapján.

Szignifikáns negatív korrelációt találtunk a CETP aktivitás változása és a HDL2a változása között, valamint szignifikáns pozitív korreláció volt az LCAT aktivitás változása és a HDL2a arány változása között (**25. ábra**).



25. ábra. A CETP aktivitás változása és a HDL2a (A), valamint az LCAT aktivitás változása és a HDL2a (B) szubfrakció arány változása közötti korrelációk.

A paraoxonáz genotípus és allél gyakoriság megoszlása megfelelt az irodalmi adatoknak és követte a Hardy-Weinberg egyensúlyt ($p < 0,005$) (23. táblázat).

23. táblázat. A paraoxonáz fenotípus és allél gyakoriság megoszlása a vizsgált betegpopulációban.

	n	%
AA	21	63,6
AB	8	24,3
BB	4	12,1
A	50	75,8
B	16	24,2

4.3. Az ezetimib kezelés hatékonyságát befolyásoló genetikai tényezők vizsgálata

4.3.1. Az ApoE génpolimorfizmus ezetimib monoterápia hatékonyságára gyakorolt hatásának vizsgálata statin intoleráns betegekben

Az általunk vizsgált betegekben az ezetimib monoterápia már 3 hónapos kezelést követően szignifikánsan csökkentette az összkoleszterin, LDL-C és triglicerid szintjét, de nem változtatta szignifikánsan a HDL-C, az ApoA1 és az ApoB szinteket. Az idő előrehaladtával az ezetimib hatása kifejezettebbé vált, és az 1 éves kezelés hatására az LDL-C és az összkoleszterinszint csökkenés elérte az egyéb vizsgálatokban észlelt mértéket. A legtöbb nagy vizsgálatban, hozzánk hasonlóan, nem mértek szignifikáns HDL-C emelkedést. A trigliceridszint csökkenés mértéke ugyancsak megfelelt az irodalmi adatoknak (**24. táblázat**).

A kiindulási lipid paraméterek nem tértek el egymástól a különböző ApoE genotípusú betegcsoportokban (**25. táblázat**). Új eredmény, hogy az ezetimib kezelés hatékonyabban csökkentette az összkoleszterin és LDL-C szintjét az ApoE 3/4 genotípusú betegekben a 2/2 genotípusú betegekhez viszonyítva, ami alátámasztja a kiindulási hipotézist, mely szerint a koleszterin felszívó, ϵ 4 allélt hordozó betegek esetében az ezetimib hatékonyabban képes kifejteni a koleszterin felszívódást gátló hatását (**26. ábra**).

24.Táblázat: A betegek antropometriai és klinikai adatai. Az értékek átlag $\pm$ SD vagy medián (alsó quartilis-felső quartilis) formában vannak feltüntetve.

életkor (év)	60,00 $\pm$ 10,83						
nem (nő/ffi)	43/20						
BMI (kg/m ²)	28,16 $\pm$ 4,64						
derékkörfogat (cm)	97,49 $\pm$ 11,76						
	kezelés előtt	kezelés után					
		3 hónap	Δ (%)	6 hónap	Δ (%)	12 hónap	Δ (%)
összkoleszterin (mmol/l)	7,72 $\pm$ 1,82	6,94 $\pm$ 1,57	-10,1***	6,79 $\pm$ 1,41	-12,1***	6,64 $\pm$ 1,43	14,0***
LDL-C (mmol/l)	4,77 $\pm$ 1,69	4,20 $\pm$ 1,42	-12,0***	4,03 $\pm$ 1,17	-15,5***	3,98 $\pm$ 1,17	-16,6***
HDL-C (mmol/l)	1,42 $\pm$ 0,42	1,40 $\pm$ 0,43	-1,4	1,43 $\pm$ 0,45	0,7	1,40 $\pm$ 0,47	-1,4
triglicerid (mmol/l)	2,5(1,8-5,7)	2,3(1,7-5,7)	-8*	2,4(1,7-4,3)	-4*	2,1(1,6-4,1)	-17,6**
ApoB (g/l)	1,30 $\pm$ 0,37	1,24 $\pm$ 0,35	-4,6	1,16 $\pm$ 0,29	-10,8***	1,16 $\pm$ 0,3	-11,8*
ApoA (g/l)	1,65 $\pm$ 0,40	1,69 $\pm$ 0,37	2,4	1,65 $\pm$ 0,31	0	1,69 $\pm$ 0,40	2,4
CRP (mg/l)	3,34(1,9-6,5)	2,54(1,6-5,2)	-23,9***	2,6(0,9-4,7)	-22,2*	2,97(2,1-5,7)	-11,1
Kreatinin kináz (U/l)	139(94-252)	130(92-228)	-6,5	145(100-220)	4,3	132(93-225)	-5,0

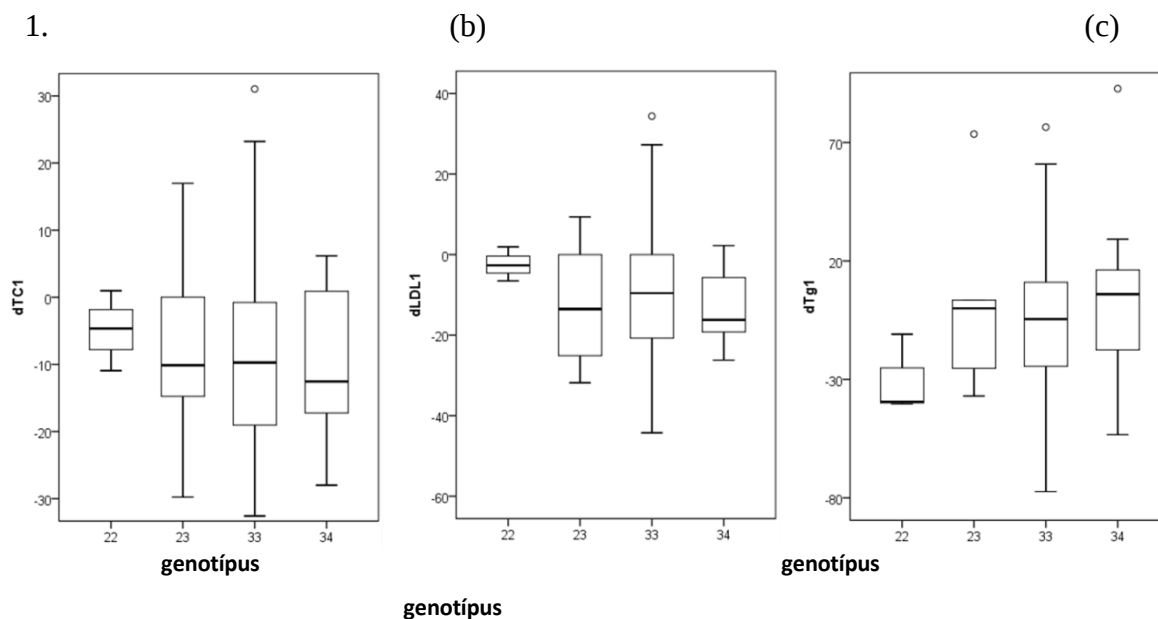
*p<0,05; **p<0,01; *** p<0,001

BMI: body mass index (testtömeg index); LDL-C: low-density lipoprotein-koleszterin; HDL-C: high-density lipoprotein-koleszterin; CRP: C-reaktív fehérje; ApoB: apolipoprotein B; ApoA: apolipoprotein A

25. táblázat. Kiindulási laboratóriumi paraméterek és antropometriai adatok a különböző ApoE genotípusú betegcsoportokban

ApoE genotípus	2/2	2/3	3/3	3/4
betegszám	3	5	43	12
életkor (év)	53,7±14,0	58,0±8,2	60,5±11,4	60,5±9,6
nem (nő/ffi)	2/1	1/4	32/10	7/5
BMI (kg/m ²)	25,4±9,4	30,7±3,4	28,0±4,2	28,8±5,2
Derékkörfogat (cm)	97,0±16,5	105±4,2	95,6±11,4	101,7±13,
összkoleszterin (mmol/l)	8,48±1,6	7,08±1,6	7,90±2,0	7,15±0,9
LDL-C (mmol/l)	4,54±0,6	3,32±1,1	4,99±1,9	4,69±0,9
HDL-C (mmol/l)	1,39±0,4	1,14±0,31	1,46±0,45	1,41±0,3
triglicerid (mmol/l)	7,41(4,4-12,7)	8,7(4,1-9,7)	2,4(1,8-4,3)	1,84(1,5-5,2)
ApoB (g/l)	0,89±0,2	1,0±0,1	1,37±0,4	1,25±0,3
ApoA (g/l)	1,67±0,1	1,28±0,2	1,70±0,4	1,63±0,19
CRP (mg/l)	2,09(1,9-2,24)	6,0(3,8-6,7)	3,28(1,9-8,0)	3,34(1,3-5,1)
kreatinin kináz (U/l)	87(45-218)	223(126-238)	135(94-245)	245(97-309)

LDL-C: low-density lipoprotein-koleszterin; HDL-C: high-density lipoprotein-koleszterin; CRP: C-reaktív protein; BMI: body mass index; ApoB: apolipoprotein B; ApoA: apolipoprotein A; ApoE: apolipoprotein E



26. ábra. Az összkoleszterin, az LDL-C és a trigliceridszint változása 3 hónapos ezetimib monoterápiát követően a különböző ApoE genotípusú betegcsoportokban

4.3.2. A *Niemann–Pick C1-Like 1* c.-133A>G polimorfizmus hatása az ezetimib monoterápia hatékonyságára

A vizsgált betegek antropometriai, illetve a kezelés előtti és utáni laboratóriumi paramétereit mutatja be a **26. táblázat**.

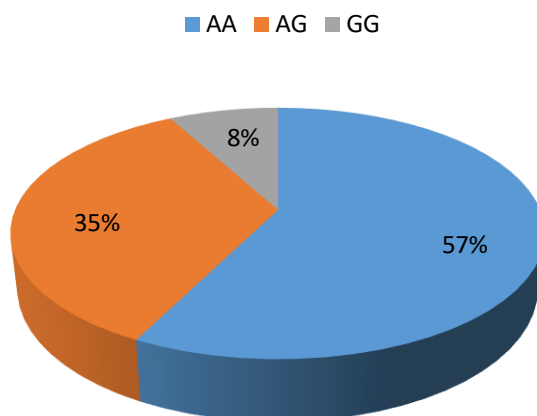
Az egész betegcsoportot vizsgálva három hónapos ezetimib kezelés után az összkoleszterin, az LDL-C és a hsCRP szintje szignifikánsan csökkent, miközben a többi vizsgált paraméter (triglicerid, HDL-C, apoB, apoAI és CK) szintje nem változott szignifikánsan. Hat hónapos kezelés után az összkoleszterin, az LDL-C, és a hsCRP szint mellett a triglicerid és az apoB szintje is szignifikánsan csökkent a kezdeti értékekhez képest. Tizenkét hónapos kezelést követően pedig szignifikánsan csökkent az összkoleszterin, az LDL-C, a triglicerid, és az apoB szint. Az egész betegcsoportot vizsgálva a 12 hónapos kezelés során nem változott szignifikánsan a HDL-C és az apoAI szintje.

26. táblázat: A vizsgált betegek antropometriai és laboratóriumi paramétereit.

Életkor (évek)	61,23±9,87						
Nem (nő/férfi)	69/32						
BMI (kg/m²)	28,18±4,29						
Haskőrfogat (cm)	98,54±11,74						
	kezelés előtt	kezelés után					
		3 hónap	változás (%)	6 hónap	változás (%)	12 hónap	változás (%)
Összkoleszterin (mmol/l)	7,46±1,42	6,79±1,46***	-9,67	6,72±1,32***	-7,9	6,48±1,39***	-11,70
LDL-C (mmol/l)	4,65±1,52	4,16±1,30 ***	-10,15	4,07±1,14***	-10,38	3,91±1,09***	-8,52
HDL-C (mmol/l)	1,45±0,43	1,43±0,41	-0,39	1,41±0,42	-0,91	1,39±0,45	1,45
Triglicerid (mmol/l)	2,45 (1,62-4,38)	2,20 (1,70-3,70)	-9,93	2,29(1,55-3,84)**	-13,45	2,10(1,60-3,70)*	-19,47
ApoB (g/l)	1,30±0,35	1,23±0,33	-2,65	1,17±0,30**	-7,61	1,15±0,28**	-6,62
ApoAI (g/l)	1,66±0,37	1,68±0,36	3,07	1,62±0,31	2,18	1,66±0,37	5,01
hsCRP (mg/l)	2,78 (1,69-5,95)	2,46(1,25-5,25) **	-17,68	2,54(0,87-4,87) **	-14,96	2,94(1,50-5,80)	-3,28
Kreatin kináz (U/l)	131,5(87,00-235,50)	123,00(88,00-225,00)	-1,10	138,00(98,00-220,00)	2,07	120,00(92,00-224,00)	-4,17

*p < 0.05; **p < 0.01; ***p < 0.001. BMI = body mass index; LDL-C = low-density lipoprotein-cholesterol (alacsony sűrűségű lipoprotein-koleszterin); HDL-C = high-density lipoprotein-cholesterol (nagy sűrűségű lipoprotein-koleszterin); ApoB = apolipoprotein B; ApoA = apolipoprotein A; hsCRP =high-sensitivity (magas szenzitivitású) C-reaktív protein.

A vizsgált betegpopulációban a *NPC1L1* c.-133A >G genotípus megoszlása a következő volt: 57,42% volt az AA, 34,65% volt az AG és 7,92% volt a GG genotípus aránya (27. ábra). Mivel a GG genotípusba tartozó betegek aránya alacsony volt, a vizsgált betegeket két csoportra osztottuk: AA (G-t nem hordozók) és AG+GG (G hordozók) alcsoportra.



27. ábra. A Niemann-Pick C1-like-1 -133A>G megoszlása a vizsgált betegcsoportban

27. táblázat. A különböző *NPC1L1* genotípusok antropometriai adatai és kezelés előtti laboratóriumi paraméterei.

<i>NPC1L1</i> genotípus	AA	AG+GG	p
n	57	44	
Életkor (évek)	62,02±10,80	60,20±8,54	ns
Nem (nő/férfi)	38/19	31/13	ns
BMI (kg/m ²)	28,67±4,79	27,59±3,60	ns
Haskőrfogat (cm)	99,29±13,12	97,71±10,11	ns
Összkoleszterin (mmol/l)	7,37±1,33	7,59±1,95	ns
LDL-C (mmol/l)	4,62±1,29	4,69±1,78	ns
HDL-C (mmol/l)	1,51±0,50	1,37±0,31	ns
Triglicerid (mmol/l)	2,50(1,50-3,50)	2,30(1,80-4,87)	ns
ApoB (g/l)	1,30±0,34	1,30±0,38	ns
ApoA1 (g/l)	1,72±0,40	1,56±0,29	ns
hsCRP (mg/l)	2,64(1,67-7,69)	3,02(1,71-4,56)	ns
Kreatin kináz (U/l)	120,00(85,00-245,00)	137,00(94,00-227,00)	ns

n = betegszám, BMI = body mass index, LDL-C = low-density lipoprotein-cholesterol (alacsony sűrűségű lipoprotein-koleszterin), HDL-C = high-density lipoprotein-cholesterol (nagy sűrűségű lipoprotein-koleszterin), ApoB = apolipoprotein B, ApoA1 = apolipoprotein A1, hsCRP = high-sensitivity (magas szenzitivitású) C-reaktív protein.

A genotípus szerint felosztott betegek kezelés előtti antropometriai és laboratóriumi paramétereiben nem találtunk szignifikáns eltéréseket (**27. táblázat**). Mindez arra utal, hogy lipidcsökkentővel nem kezelt betegekben a genotípusbeli különbség nem okoz szignifikáns lipidszint eltéréseket.

Az ezetimib kezelés hatására mind az AA, mind az AG+GG genotípusú betegekben szignifikáns csökkenést észleltünk az összkoleszterin és az LDL-C szintjében 3 és 12 hónapos kezelést követően. A triglicerid, a HDL-C és az ApoB szintje egyik csoportban sem csökkent szignifikáns mértékben. Míg az AA genotípusú betegekben az ApoA1 szintje nem szignifikánsan csökkent, az AG+GG genotípusúakban 3,6 és 12 hónap után is szignifikáns mértékű emelkedést tapasztaltunk (**28. táblázat**)

28. táblázat: A lipoprotein és apolipoprotein szintek %-ban kifejezett változása 3, 6 és 12 hónapos ezetimib kezelés során a különböző NPC1L1 genotípus csoportok és az egész betegpopuláció esetében

	AA		AG+GG		összes beteg	
	Δ (%)	SD	Δ (%)	SD	Δ (%)	SD
Összkoleszterin						
3 hónap	-9.12	14.8 §	-10.27	13.4 §	-9.67	14.1
6 hónap	-7.21	20.9	-8.80	18.3	-7.9	19.7
12 hónap	-12.95	15.5 §	-10.06	17.5 §	-11.7	16.3
Triglicerid						
3 hónap	-8.15	36.8	-10.63	30.7	-9.93	33.8
6 hónap	-11.11	64.5	-15.84	30.12	-13.45	52.0
12 hónap	-19.47	60.2	-19.80	49.7	-19.47	55.6

LDL-C

3 hónap	-9.29	18.7 §	-11.02	16.6 §	-10.15	17.6
6 hónap	-10.78	29.3	-9.96	21.5	-10.38	25.6
12 hónap	-5.94	32.8 §	-11.00	21.0 §	-8.52	27.2

HDL-C

3 hónap	-4.45	12.6	3.94	21.4	-0.39	17.8
6 hónap	-5.09	24.8	3.58	23.2	-0.91	24.3
12 hónap	-1.67	22.9	4.57	30.6	1.45	26.9

ApoB

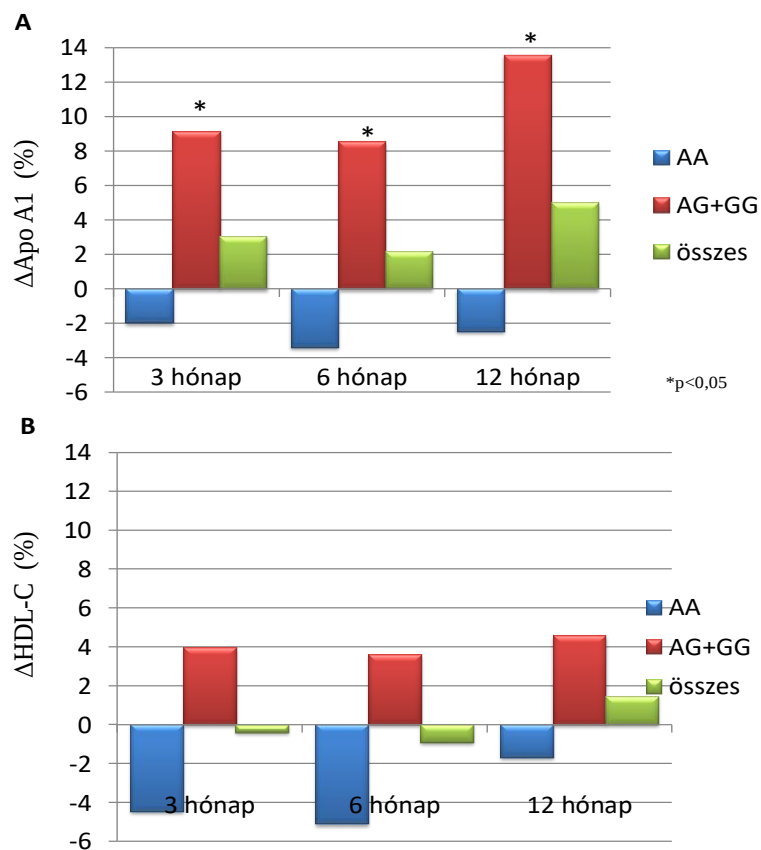
3 hónap	-1.16	24.1	-4.44	14.6	-2.65	20.2
6 hónap	-9.12	15.8 §	-5.88	17.5	-7.61	16.5
12 hónap	-6.83	29.1 §	-6.38	16.6	-6.62	23.7

ApoA1

3 hónap	-1.96	10.4	9.15	21.1 § χ	3.07	16.9
6 hónap	-3.39	15.1	8.54	22.6 § χ	2.18	19.7
12 hónap	-2.74	19.2	13.58	25.7 § χ	5.01	23.7

LDL-C = low-density lipoprotein-cholesterol (alacsony sűrűségű lipoprotein-koleszterin); HDL-C = high-density lipoprotein-cholesterol (nagy sűrűségű lipoprotein-koleszterin); ApoB = apolipoprotein B; ApoA1 = apolipoprotein A1; §: $p < 0.05$ a kiindulási értékekhez viszonyítva; χ : $p < 0.05$ az AA és AG+GG genotípus között

A genotípusonként eltérő, ApoA1 és HDL-C szintre gyakorolt ezetimib hatást mutatja be a **28. ábra**. Az AA genotípusú betegekben az ezetimib kezelés hatására nem szignifikáns mértékű csökkenést észleltünk az ApoA1 és HDL-C szintekben, míg a G allélt hordozó AG és GG genotípusú betegekben az ApoA1 szintje szignifikánsan, a HDL-C szintje nem szignifikánsan nőtt.



28. ábra: Az apolipoprotein AI (A) és a nagy sűrűségű lipoprotein-koleszterin (HDL-C) (B) szint változása (%) 3, 6 és 12 hónapos ezetimib monoterápia a különböző NPC1L1 genotípusok genotípus csoportok és az egész betegpopuláció esetében

4.4. A szelektív LDL aferezis kezelés hatása a chemerin, afamin és E-vitamin szintekre, valamint a mennyiségi és minőségi lipidparaméterekre

4.4.1. A szelektív LDL aferezis kezelés hatása a lipoproteinek és a szérumban a chemerin szintjére

A vizsgálatba bevont 6 súlyos heterozigóta familiáris hypercholesterinaemiás beteg klinikai adatait és laboratóriumi eredményeit az LDL aferezis kezelés előtt és után a **29. táblázat** szemlélteti. A kezelés hatására szignifikáns mértékben csökkent a betegek összkoleszterin, LDL-C, HDL-C, ApoB, ApoA1 és szérumban a kreatinin szintje. A szérumban a chemerin szint szintén szignifikánsan csökkent. Jelentősen csökkent a kis-denz LDL szubfrakció százalékos aránya és a kicsi HDL szubfrakció százalékos aránya, míg az átlagos LDL méret szignifikánsan nőtt.

29. táblázat: A betegek antropometriai adatai és lipid paraméterei az LDL aferezis kezelés előtt és után

	Kezelés előtt	Kezelés után	Változás (%)
Kor (év)	60,57±4,79		
Nem (nő/férfi)	3/3		
Testtömeg index (kg/m ²)	26,19±2,14		
Derék körfogat (cm)	101±8,19		
Összkoleszterin (mmol/L)	9,25±1,49	4,41±0,99***	-52,58
LDL-C (mmol/L)	6,92±1,34	2,69±0,97***	-61,84
HDL-C (mmol/L)	1,40±0,31	1,24±0,16*	-10,46
Apo B (g/L)	2,10±0,42	0,82±0,28***	-61,49
Apo A (g/L)	1,69±0,19	1,44±0,10**	-14,09

Kreatinin (μmol/L)	94,33±58,18	82,33±52,95**	-13,52
Szérum chemerin (ng/mL)	82,34±36,30	59,09±24,89**	-27,26
Nagy LDL (%)	27,36±6,64	23,72±4,62	-12,20
Kis-denz LDL (%)	4,86±4,27	1,14±1,57**	-83,81
Átlagos LDL méret (nm)	26,64±0,568	26,98±0,402*	0,129
Nagy HDL (%)	21,08±4,79	24,36±4,25	16,70
Közepes HDL (%)	45,16±5,25	50,02±3,47	11,45
Kis HDL (%)	33,76±8,66	25,62±5,75**	-23,44

Az adatok átlag±szórás (SD) formában vannak feltüntetve. *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001

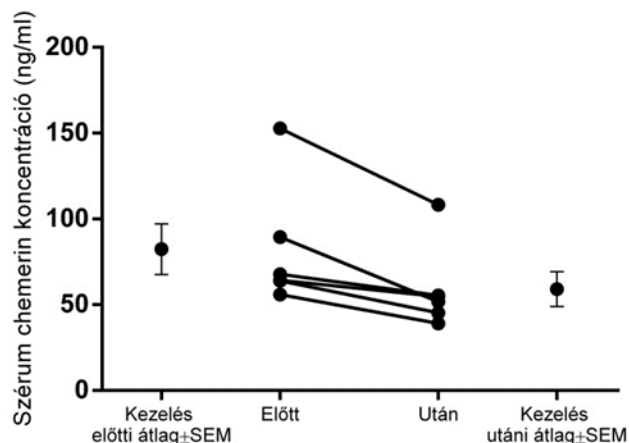
Annak vizsgálatára, hogy a chemerin szint csökkenésért a fehérje aferezis oszlophoz történő kikötődése felel-e, az oszlopról a kezelést követően eltérő pH-jú pufferoldatok felhasználásával eluáltuk a fehérjéket, és az eluátumból meghatároztuk a chemerin koncentrációkat. A **30. táblázat** a 6 beteg esetén a különböző pH értékkel rendelkező eluáló oldatok alkalmazásával nyert eluátumokban mért chemerin koncentrációt mutatja. A legmagasabb chemerin szintet a pH 5,0 eluáló oldattal nyertük. Ezzel igazoltuk, hogy a kezelés során a chemerin az aferezis oszlophoz kötődik.

30. táblázat. Az LDL aferezis oszlopról eluált oldat chemerin szintjei (ng/mL).

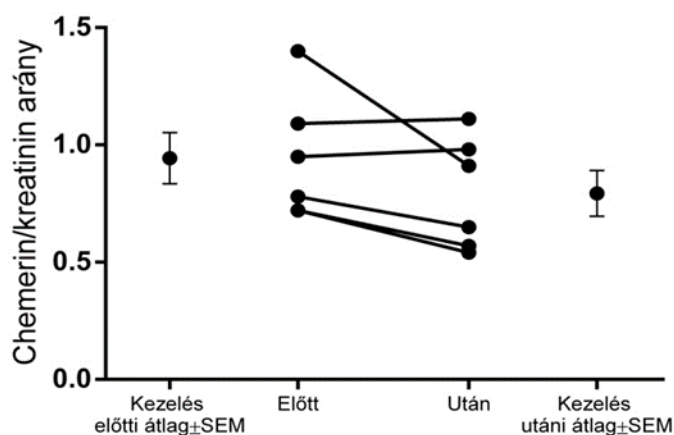
	Beteg 1	Beteg 2	Beteg 3	Beteg 4	Beteg 5	Beteg 6	Medián
pH 3.0	148,89	79,73	71,69	134,69	37,82	24,77	75,7 (37,8–134,7)
pH 4.0	383,28	187,44	169,43	112,59	122,23	124,62	147,0 (122,2–187,4)
pH 5.0	649,73	272,62	273,76	176,37	188,79	278,31	273,2 (188,8–278,3)

A **29. ábra** a szérumban chemerin szint és a chemerin/kreatinin arány változását mutatja be a kezelés előtt és után a 6 bevont beteg esetén. Mindegyik beteg esetén csökkent a chemerin szint a kezelés hatására. Bár a vizsgált betegek alacsony száma miatt egyértelmű következtetés nem vonható le, a csökkenés mértéke a kiindulási chemerin szintjével mutat némi összefüggést. A chemerin/kreatinin arány 4 beteg esetén csökkent, míg kettő esetében érdemben nem változott.

(a)



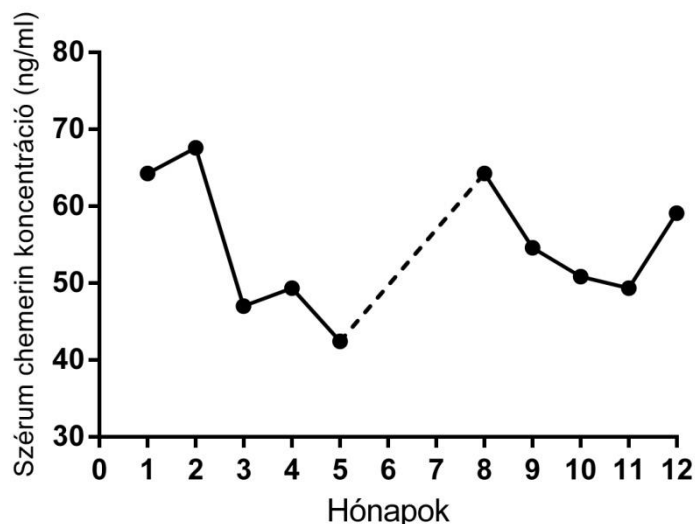
(b)



29. ábra. (a) Hat beteg (B1-B6) szérumban chemerin szintjei (ng/mL) és **(b)** Hat beteg (B1-B6) szérumban chemerin/kreatinin aránya (%) közvetlenül az első szelektív LDL aferezis kezelésük előtt és után DALI 750 oszlopok alkalmazásával. Rövidítés: SEM, standard error of the mean-átlag szórása

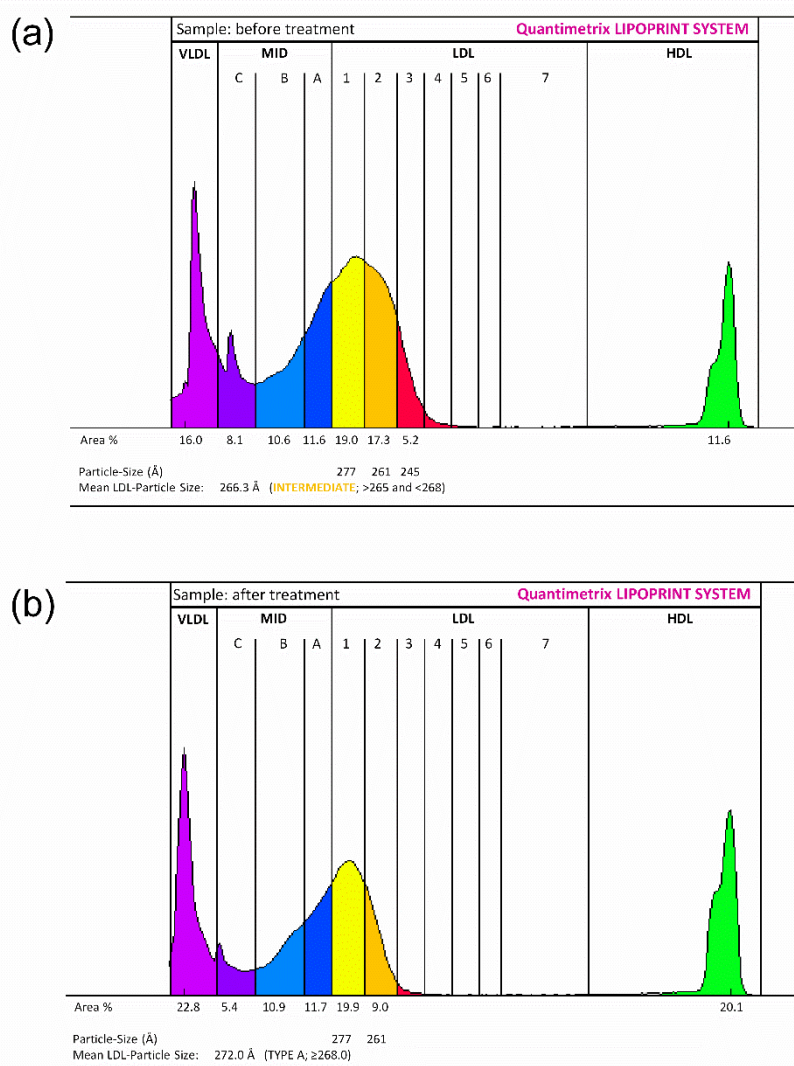
Egy beteg esetén 12 hónapon át követtük a kezeléseket előtt mért chemerin szinteket a hosszú távú hatás megítélése céljából, melyet a **30. ábra** mutat be. A rendszeres

(havonkénti) kezelések hatására a szérumban chemerin szint egyértelmű csökkenést mutatott. 5 kezelést követően a kezeléseket a beteg kérésére megszakítottuk, majd 3 hónap elteltével ismét elindítottuk. Látható, hogy a kezelések elmaradásával a chemerin szintje ismét megemelkedett, majd a rendszeres kezelések hatására ismét csökkenő tendenciát mutatott.



30. ábra: Az egyik beteg (B2) havonkénti LDL aferezis kezelés előtt mért szérumban chemerin szint változásai 12 hónapon keresztül. A kezelés 3 hónapon keresztül szünetelt (szaggatott vonal).

Az LDL szubfrakciók megoszlásában észlelt kedvező változásokat szemlélteti a **31. ábra**, melyen az egyik beteg reprezentatív lipoprotein szubfrakciós mintázata látható az LDL aferezis kezelés előtt és után. A jelentős LDL-C csökkenés miatt a görbe alatti terület csökken, de ezen belül eltolódás figyelhető meg a nagyobb méretű LDL szubfrakciók irányába. Jól látható, hogy a pirossal jelölt kis-denz LDL szubfrakció mennyisége jelentősen csökken a kezelést követően. Mindez magyarázza az átlagos LDL méret emelkedését a kezelés után.



31. ábra A familiáris hypercholesterinaemiás betegek reprezentatív lipoprotein szubfrakciós mintázata LDL aferezis kezelés előtt **(a)** és után **(b)**. A kis-denz LDL szubfrakciók piros színnel jelöltek.

4.4.2. A szelektív LDL aferezis kezelés hatása a szérum alfa és béta tokoferol, valamint afamin szintjére

A 6 súlyos heterozigóta familiáris hypercholesterinaemiás beteg és kontrollok klinikai adatait és laboratóriumi eredményeit a **31. táblázat** mutatja be. A betegeknél a kontrollhoz viszonyítva szignifikánsan magasabb összkoleszterin, LDL-C és ApoB, valamint szignifikánsan alacsonyabb HDL-C és ApoA1 szinteket észleltünk. Szignifikánsan magasabb afamin, afamin/HDL-C és afamin/ApoA1, valamint α - és γ -tokoferol, illetve oxidált LDL szintet mértünk a betegeken a kontrollokhoz viszonyítva a kezelés előtt. A kezelés szignifikánsan csökkentette a betegek összkoleszterin, LDL-C, HDL-C, ApoB és

ApoA1 szintjét. Mérsékelt, de szignifikánsan csökkent a szérum afamin szintje, és jelentősen csökkent az α - és γ - tokoferol szint. Az afamin/HDL-C és az afamin/ApoA1 hányados nem változott szignifikáns mértékben. Az α - tokoferol/koleszterin és a γ - tokoferol/koleszterin hányados ugyanakkor szignifikáns mértékben emelkedett. Jelentősen és szignifikánsan csökkent az oxidált LDL szintje a kezelést követően.

31. táblázat. A betegek és kontrollok antropometriai adatai és laboratóriumi paraméterei az LDL aferezis kezelés előtt és után.

	Betegek			Kontrollok
	Kezelés előtt	Kezelés után	Változás (%)	
Kor (év)	59,17 $\pm$ 3,31			56,43 $\pm$ 3,64
Nem (nő/férfi)	3/3			4/3
Testtömeg index (kg/m²)	25,83 $\pm$ 2,14			27,13 $\pm$ 3,13
Összkoleszterin (mmol/L)	9,25 $\pm$ 1,49	4,41 $\pm$ 0,99***	-52,6	5,02 $\pm$ 1,01 ^{††}
LDL-C (mmol/L)	6,92 $\pm$ 1,34	2,69 $\pm$ 0,97***	-61,8	2,96 $\pm$ 0,67 ^{††}
HDL-C (mmol/L)	1,40 $\pm$ 0,31	1,24 $\pm$ 0,16*	-10,5	1,68 $\pm$ 0,37 [†]
Apo B (g/L)	2,10 $\pm$ 0,42	0,82 $\pm$ 0,28***	-61,5	0,95 $\pm$ 0,25 ^{††}
Apo A1 (g/L)	1,69 $\pm$ 0,19	1,44 $\pm$ 0,10**	-14,1	1,86 $\pm$ 0,28 [†]
Kreatinin (μmol/L)	70,8 $\pm$ 8,8	61 $\pm$ 9,5**	-13,8	73,8 $\pm$ 13,4
Szérum afamin (ng/mL)	126,5 $\pm$ 32,4	113,6 $\pm$ 27,8**	-9,4	90,2 $\pm$ 21,5 ^{††}
Afamin/HDL-C (mg/mmol)	92,51 $\pm$ 26,3	93,94 $\pm$ 29,1	+1,1	54,62 $\pm$ 12,2 [†]
Afamin/Apo A1(mg/g)	74,63 $\pm$ 15,7	78,84 $\pm$ 19	+5,4	48,93 $\pm$ 9,21 ^{††}
α- tokoferol (μg/ml)	16,99 $\pm$ 5,07	10,8 $\pm$ 2*	-34,1	9,26 $\pm$ 0,8 ^{††}
γ- tokoferol (μg/ml)	0,35 $\pm$ 0,09	0,22 $\pm$ 0,04**	-32,9	0,17 $\pm$ 0,05 ^{†††}
α- tokoferol/kol (mg/mmol)	1,86 $\pm$ 0,6	2,52 $\pm$ 0,6*	+41,4	1,8 $\pm$ 0,3

γ- tokoferol/kol (mg/mmol)	0,04±0,01	0,05±0,02*	+40,3	0,03±0,01
oxidált LDL (U/L)	76±8,9	33,1±12,9**	-57,4	47,9±13,6 ^{††}

Az adatok átlag±szórás (SD) formában vannak feltüntetve.

Kezelés előtt vs. kezelés után: *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001

Kezelés előtt vs. kontroll: [†]p<0,05; ^{††}p<0,01; ^{†††}p<0,001

A betegeknek a szignifikánsan alacsonyabb volt a nagy HDL szubfrakció, míg szignifikánsan magasabb a kis HDL szubfrakció százalékos aránya a kontrollokhoz viszonyítva (**32. táblázat**). A kezelés hatására a betegek szérumban szignifikáns mértékben csökkent a kis HDL szubfrakció százalékos aránya, míg a nagy és közepes HDL szubfrakciók százalékos arányában nem szignifikáns mértékű emelkedést észleltünk.

32. táblázat: A betegek és kontrollok HDL szubfrakcióinak százalékos eloszlása LDL aferezis kezelés előtt és után

	Betegek			Kontrollok
	Kezelés előtt	Kezelés után	Változás (%)	
Nagy HDL (%)	21,08±4,79	24,36±4,25	16,70	30,07±5,25 [†]
Közepes HDL (%)	45,16±5,25	50,02±3,47	11,45	48,47±3,19
Kis HDL (%)	33,76±8,66	25,62±5,75**	-23,44	21,46±6,28 [†]

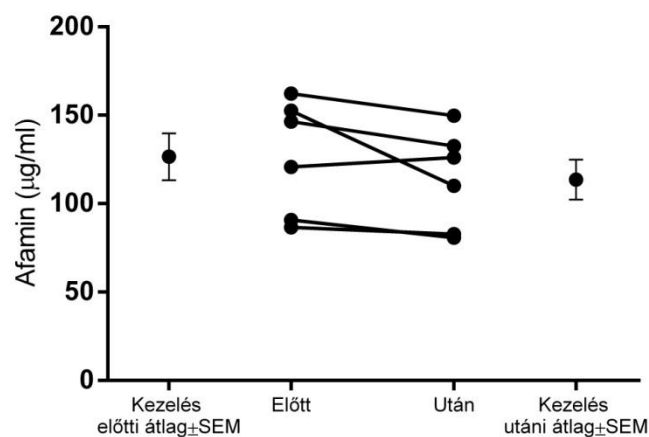
Az adatok átlag±szórás (SD) formában vannak feltüntetve.

Kezelés előtt vs. kezelés után: **p<0,01

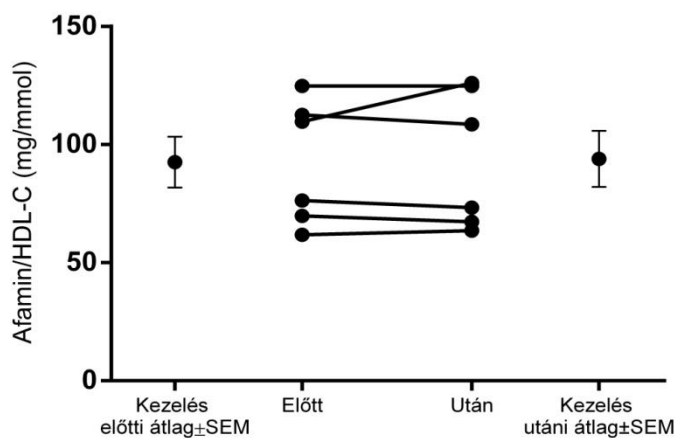
Kezelés előtt vs. kontroll: [†]p<0,05

A kezelés afamin szintre és afamin/HDL-C hányadosra gyakorolt hatását a 6 beteg esetén a **32. ábra** mutatja be. A szérumban afamin szint 5 beteg esetén mérsékelten csökkent, egy beteg esetén mérsékelten emelkedést tapasztalunk, a változás mértéke ugyanakkor nem függött a kiindulási afamin szintektől. Az afamin/HDL-C hányados egyik beteg esetén sem mutatott érdemi változást a kezelés hatására.

(a)



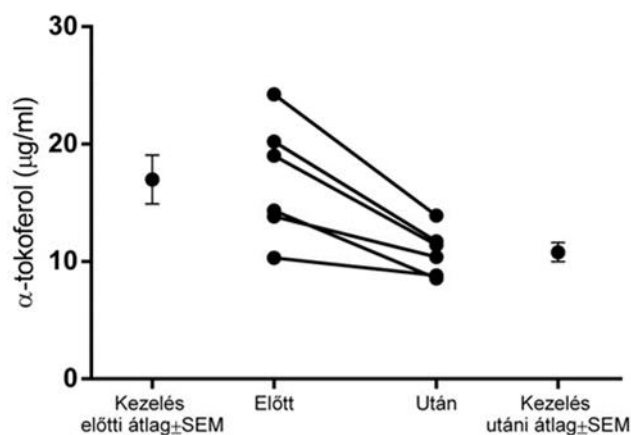
(b)



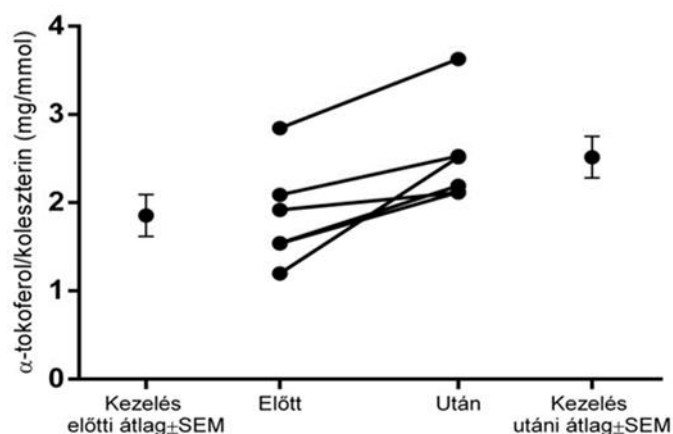
32. ábra: (a) Hat beteg szérum afamin szintjei (ng/mL); (b) A hat beteg szérum afamin/HDL arányainak változásai közvetlenül az első, DALI 750 oszlopok alkalmazásával történő szelektív LDL aferezis kezelésük előtt és után. Rövidítés: SEM, standard error of the mean (átlag szórása).

Az α -tokoferol szintje minden beteg esetén jelentősen csökkent a kezelés hatására, míg az α -tokoferol/koleszterin hányados minden beteg esetén jelentősen magasabb volt a kezelést követően a kiindulási értékekhez képest (33. ábra).

(a)



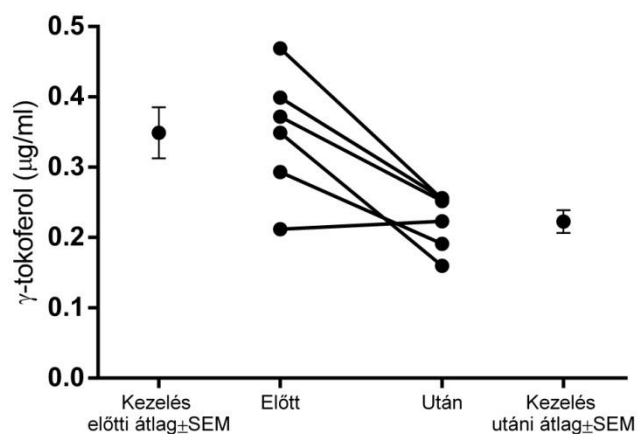
(b)



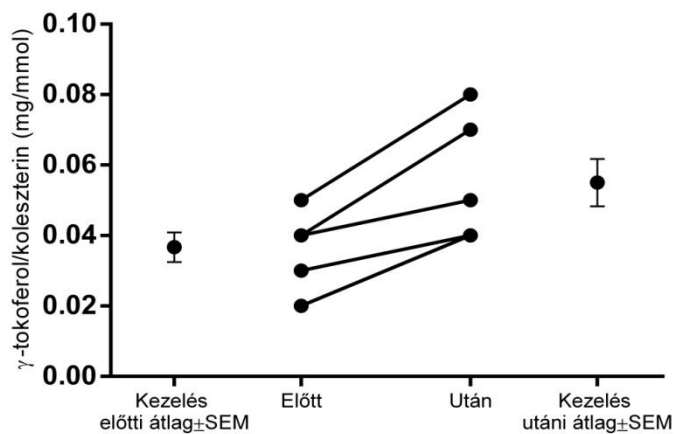
33. ábra: (a) A hat beteg szérum α -tokoferolszintjei ($\mu\text{g/mL}$) és; (b) A hat beteg szérum α -tokoferol/koleszterin arányainak változásai közvetlenül az első, DALI 750 oszlopok alkalmazásával történő szelektív LDL aferezis kezelésük előtt és után. Rövidítés: SEM, standard error of the mean (átlag szórása).

A γ -tokoferol szintje 5 beteg esetében jelentősen csökkent a kezelés hatására, egy beteg esetén nem észleltünk érdemi változást. A csökkenés mértéke nem függött össze a kiindulási γ -tokoferol szintekkel. A γ -tokoferol/koleszterin hányados ezzel szemben minden beteg esetében szignifikánsan emelkedett a kezelést követően (34. ábra).

(a)



(b)



34. ábra. (a) A hat beteg szérum γ -tokoferol szintjei ($\mu\text{g/mL}$) és; **(b)** A hat beteg szérum γ -tocopherol/koleszterin arányainak változásai közvetlenül az első, DALI 750 oszlopok alkalmazásával történő szelektív LDL aferezis kezelésük előtt és után.

Rövidítés: SEM, standard error of the mean (átlag szórása).

5. Megbeszélés

5.1. A paraoxonáz aktivitás összefüggése egyes, az érlelmeszesedés kialakulásában szerepet játszó tényezőkkel

5.1.1 A paraoxonáz aktivitás és a carotis intima-média távolság közötti összefüggés

A B-mód ultrahang vizsgálattal detektált IMT az érlelmeszesedés korai szakaszának elfogadott markere, melyet a nemzetközi irodalom is széles körben alkalmaz [179-181]. Bár korábban már leírták a PON1 paraoxonáz protektív szerepét az érlelmeszesedés kialakulásában, az IMT és a PON1 aktivitás közötti összefüggés tekintetében az irodalmi adatok nem voltak egységesek. Eredményeink alapján a PON1 aktivitás és az IMT között negatív korreláció igazolódott a teljes vizsgálati populációban. Bár a carotis szűkülettel rendelkező betegek esetén mind a PON1 paraoxonáz, mind a só stimulált paraoxonáz aktivitás alacsonyabb volt, a különbség a kontroll csoporthoz képest nem bizonyult szignifikáns mértékűnek, részben az egyénenként igen eltérő PON1 aktivitások miatt [182], de korábbi vizsgálatok sem észleltek csökkent PON1 aktivitást carotis szűkülettel rendelkező betegeknél [183-185]. Az érlelmeszesedés kialakulásában a gyulladás és oxidatív stressz mellett az immunológiai folyamatoknak is jelentős szerepe van. Az egyes plakk komponensek, köztük az oxLDL ellen a B sejtek által termelt autoantitestek lassíthatják az érlelmeszesedés folyamatát. Az anti-oxLDL antitestek szintje emellett jól jellemzi az LDL oxidatív módosulásának mértékét. Mivel a PON1 képes kivédeni az LDL oxidációját az oxidált lipidek hidrolízisén keresztül, feltételeztük, hogy a magasabb PON1 aktivitáshoz alacsonyabb anti-oxLDL szintek társulnak. Eredményeink alátámasztják hipotézisünket, mivel szignifikáns negatív korrelációt találtunk mind a PON1 paraoxonáz, mind a PON1 só stimulált paraoxonáz aktivitás és az anti-oxLDL szintje között. Mindezek az adatok jelzik a PON1 aktivitás jelentőségét az LDL oxidáció gátlásában. Nem találtunk ugyanakkor összefüggést a PON1-192 fenotípusok és az IMT között, mely egybevág a PON1 genotípus és IMT összefüggését vizsgáló irodalmi adatok egy részével [183, 186-190], mások azonban igazolták a genotípus és az IMT összefüggését [191-195]. Meg kell azonban jegyezni, hogy az utóbbi évtizedek kutatási eredményei alapján klinikai szempontból a PON1 aktivitás ill. fenotípus jelentőségét nagyobbban találták, mint a genotípusét [196]. Igaz, az életkor és az érlelmeszesedés foka befolyásolhatja az összefüggést, ami magyarázhatja, hogy egyes korábbi vizsgálatok, például gyermekeknél miért nem jutottak hasonló eredményre [197]. A vizsgálat korlátjai

közül az alacsony betegszám és az oxLDL szint mérésének hiánya említendő. Ugyanakkor az eredmények rávilágítanak az LDL oxidáció kiemelt szerepére a korai érrelmeszesedés folyamatában, és igazolják a PON1 aktivitás védő szerepét.

5.1.2. A paraoxonáz aktivitás összefüggése a mieloperoxidáz és a mátrix metalloproteáz-9 szintjével

A HDL-hez kapcsolódó enzimek közül a lipid paraméterek mellett a pro-oxidáns hatású MPO koncentráció és az anti-oxidáns tulajdonságokkal rendelkező PON1 aktivitás közötti összefüggést vizsgáltuk újonnan diagnosztizált, még kezeletlen, részben már érszövődémmel rendelkező (iszkémiás szívbetegségben, cerebrovaszkuláris megbetegedésben vagy alsóvégtagi érszűkületben szenvedő), részben ismert szövődményektől mentes hyperlipidaemiás betegnél. Emellett az érrelmeszesedés folyamatában szerepet játszó MMP-9 és annak szöveti inhibitorának, a TIMP-1-nek a szintjét is mértük, a korábbinál komplexebb módon mérve fel ezen betegcsoport kockázatát az érrelmeszesedés kialakulására. Szignifikánsan magasabb összkoleszterin, LDL-C, triglicerid és húgysav szinteket találtunk a vaszkuláris szövődménnyel rendelkező betegeknél a szövődménnyel nem rendelkező betegekhez képest, igazolva ezen ismerten pro-atherogén tényezők kedvezőtlen hatását az érszövődmények kialakulására. A vaszkuláris szövődménnyel rendelkező és szövődménymentes betegcsoport HDL-C szintje között nem találtunk szignifikáns eltérést. A jelentős mértékben a HDL-hez kötötten keringő MPO szintje szignifikánsan magasabb volt a vaszkuláris szövődménnyel rendelkező csoportban, igazolva a nagyobb mértékű oxidatív stresszt ezeknél a betegeknél. A PON1 arileszteráz és paraoxonáz aktivitásban szignifikáns mértékű különbséget nem találtunk, feltehetően a jelentős egyéni aktivitás eltérések miatt. Szignifikáns pozitív korrelációt mutattunk ki az MPO és MMP-9, valamint az MPO és a TIMP-1 szintek között a vaszkuláris szövődménnyel rendelkező és nem rendelkező betegeknél egyaránt, ami jelezheti az ismert szövődménnyel még nem rendelkező betegek szubklinikus, tüneteket még nem okozó, de már jelen lévő kezdődő érrelmeszesedését. Az MPO szint és a PON1 arileszteráz aktivitás között szignifikáns negatív korrelációt találtunk mind a teljes betegpopulációban, mind a vaszkuláris szövődménnyel rendelkező és nem rendelkező alcsoportokban. Ugyanakkor a PON1 paraoxonáz aktivitás és az MPO szint közötti negatív összefüggés nem bizonyult szignifikáns mértékűnek. Az MPO és PON1 közötti negatív összefüggést korábban 2-es

típusú diabetes mellitusban és koszorúér betegségben szenvedő betegeknel már igazolták [198, 199]. A szoros inverz korrelációt magyarázza az MPO és a PON1 szoros kapcsolata és egymásra kifejtett gátló hatása, melyet *in vitro* vizsgálatok elegáns módon bizonyítottak [76]. Ennek hatásra vezették be az MPO/PON1 arányt a HDL funkció jellemzésére [77], mely vizsgálatunk eredményei alapján szignifikánsan magasabbnak bizonyult a vaszkuláris szövődménnyel rendelkező csoportban a szövődménymentes csoporthoz viszonyítva, alátámasztva az MPO/PON1 arány alkalmazásának potenciális hasznát a kardiovaszkuláris kockázatbecslésben.

Többszörös regressziós analízist alkalmazva azt találtuk, hogy az MMP-9 és TIMP-1 szint, valamint a PON1 arileszteráz aktivitás az MPO szint szignifikáns prediktorai mind a teljes betegpopulációt, mind a vaszkuláris szövődménnyel nem rendelkező alcsoportot tekintve. A vaszkuláris szövődménnyel rendelkező betegeknel azonban az MPO szint egyetlen független prediktora a PON1 arileszteráz aktivitás volt.

Eredményeink rávilágítanak az érlelmeszesedés folyamatában részvevő pro- és anti-oxidáns enzimek és egyéb fehérjék működésének komplexitására, az egymásra kifejtett hatások sokrétű jellegére, mely magyarázza az egyes biomarkerek alkalmazhatóságának korlátait klinikai gyakorlatban. Aláhúzza ugyanakkor a HDL funkció jelentőségét, melynek komplex értékeléséhez a mai napig nem áll rendelkezésre igazoltan hatékony módszer.

A vaszkuláris szövődménnyel rendelkező betegek életkora emellett szignifikánsan magasabb, mint a szövődménnyel nem rendelkezőké, ami, tekintve, hogy az érlelmeszesedés folyamata évtizedeken át zajlik, nem meglepő. A vizsgált paraméterek azonban nem mutatnak összefüggést az életkorral, így az eltérő életkor a két csoport között minden bizonnyal nem befolyásolja a kapott eredményeket. Eredményeink első ízben igazolták az MPO és az MMP-9, valamint az MPO és a TIMP-1 szintek közötti szoros összefüggéseket, és megerősítették a más beteganyagon észlelt összefüggéseket az MPO szint és a PON1 aktivitás között kezeletlen hyperlipidaemiás betegekben.

5.1.3. A paraoxonáz aktivitás és a mieloperoxidáz szint összefüggése egyes vaszkuláris markerek szintjével

Egy korábbi vizsgálat nem talált összefüggést az ismételt kardiovaszkuláris esemény kockázata, valamint a plazma LDL-C, MMP-9, MPO, sCD40L, sICAM-1 és sVCAM-1 szintje között atorvastatin kezelésben részesülő betegekben [200]. Ugyanakkor számos

korábbi vizsgálat bizonyította, hogy a statin és ezetimib kezelés jelentősen befolyásolja a kardiovaszkuláris markerek szintjét [201, 202]. Ezért az érlelmeszesedés kialakulásában résztvevő fehérjék szerepe kezelt betegeken nem vizsgálható megfelelő módon, mivel a legtöbb hyperlipidaemiás beteg esetén kezdődő érlelmeszesedés már megfigyelhető, még ha a klinikumban alkalmazott vizsgálómódszerekkel nem is kimutatható mértékű. Ezért az általunk vizsgált frissen diagnosztizált, még kezeletlen, részben már vaszkuláris szövődménnyel rendelkező, részben vaszkuláris szövődmény mentes betegcsoport vizsgálata értékes információkkal szolgálhat.

A polimorfonukleáris leukociták a szabadgyökök és a gyulladásos mediátorok legfontosabb forrásai [203]. Aktivációjuk a krónikus oxidatív stressz és az alacsony fokú gyulladásos folyamatok kialakulásához vezet, mely endothel diszfunkció, fokozott érlelmeszesedés, ennek következtében kardiovaszkuláris szövődmények kialakulásával jár. Ismert, hogy hyperlipidaemiás betegekben a polimorfonukleáris leukociták termelte MPO és a szérumban MPO aktivitás emelkedett [204]. A saját betegeinknél talált pozitív összefüggés az MPO, valamint a sCD40L, ADMA és sICAM-1 szintek között a teljes betegcsoportban alátámasztja azt, hogy a polimorfonukleáris leukociták jelentős szerepet játszhatnak az érlelmeszesedés korai szakaszának kialakulásában. Az ADMA korábbi megfigyelések szerint csökkenti a polimorfonukleáris leukociták nitrogén-monoxid termelését, mely fokozza a leukociták endothel sejtekhez történő adhézióját, szuperoxid anion és MPO termelését [205]. Az általunk talált szignifikáns pozitív korreláció az ADMA és az MPO szintje között alátámasztja a fenti ADMA/MPO interakció koncepcióját.

Bár a PON1 aktivitás kedvező hatása az érlelmeszesedés folyamatában jól ismert, a pontos mechanizmus nem tisztázott minden részletében. A PON1 laktonáz aktivitásának jelentősége az immunrendszer működésében korábban már felmerült. Az 5-hidroxi-ikozatetránsav (5-HETE) laktont a PON1 képes bontani, mely hozzájárulhat a PON1 lokális gyulladáscsökkentő hatásához [38]. Mivel a PON1 laktonáz és arileszteráz aktivitása szorosan korrelál, az általunk észlelt szignifikáns negatív korreláció a sCD40L, ADMA és sICAM-1 szintekkel a teljes betegcsoportban a PON1 laktonáz aktivitásából fakadó gyulladáscsökkentő hatását tükrözi. Érdekes módon többszörös regressziós analízist végezve azt találtuk, hogy a PON1 arileszteráz aktivitás az MPO szérumban szintjének független prediktora, de csak a vaszkuláris szövődménnyel még nem

rendelkező betegcsoportban, ami arra utalhat, hogy az érelmeszesedés kezdeti szakaszában a korábban leírt HDL-MPO-PON1 hármas komplexnek klinikai szempontból is van jelentősége [76]. A vizsgálat korlátaik közül a vaszkuláris szövődménnyel rendelkező betegek relatív kis aránya említendő, bár a teljes betegcsoport nagy létszámú. A korai érelmeszesedés kimutatására alkalmas vizsgálómódszerek (például IMT vagy flow-mediált dilatáció, esetleg artériás stiffness meghatározás) további fontos információval szolgálhatna. Bár a vaszkuláris szövődménnyel rendelkező és nem rendelkező betegcsoportok életkora között, nem meglepő módon, szignifikáns különbség van, a vizsgált paraméterek nem mutattak szignifikáns korrelációt az életkorral, így az életkor szerepe a megfigyelések szempontjából nem jelentős.

Vizsgálatunk először igazolta a PON1 arileszteráz aktivitás valamint a szérumban sCD40L, ADMA és sICAM-1 szintek közötti szignifikáns negatív, illetve a szérumban MPO valamint a sCD40L, ADMA és sICAM-1 szintek közötti szignifikáns pozitív korrelációkat kezeletlen hyperlipidaemiás betegek vizsgálata során. Eredményeink rávilágítanak a HDL-hez kötött pro- és antioxidáns hatású enzimek jelentőségére az endothel diszfunkció és az érelmeszesedés korai szakaszához kapcsolódó gyulladásos folyamatokban.

5.1.4. A HDL szubfrakciók és a HDL-hez kötött enzimek vizsgálata

A szérumban HDL-C mérés elfogadott a klinikai gyakorlatban, azonban nem szolgál elegendő információval a HDL részecskék funkcióját és összetételét illetően. Ugyanakkor ennek meghatározására nincs egységesen elfogadott módszer, bár az utóbbi évtizedekben számos erre a feladatra kifejlesztett tesztet publikáltak [206]. Ennek következtében a HDL funkció és összetétel összefüggése a szív- és érrendszeri betegségek kialakulásával a mai napig vitatott kérdés, ezért a témában végzett új kutatási eredmények mindegyike nagy jelentőséggel bír. A szubfrakciók meghatározását illetően szintén nem egységes az álláspont, de a kutatási eredmények többsége azt igazolta, hogy a lipidekben gazdagabb, nagyobb méretű HDL2 szubfrakció főként a reverz koleszterin transzportban bír jelentőséggel, így védő hatású az érelmeszesedés és a kardiovaszkuláris megbetegedések kialakulása szempontjából, míg a nagyobb fehérje tartalmú, kisebb méretű HDL3 szubfrakció kedvező hatása az érelmeszesedés szempontjából kevésbé nyilvánvaló, de számos antioxidáns enzim, köztük a PON1 hordozója [207]. Kezeletlen hyperlipidaemiás, manifest vaszkuláris szövődménnyel még nem rendelkező betegeinknél a poliakrilamid

gélelektroforézissel meghatározott HDL szubfrakciók aránya a kisebb HDL részecskék irányba tolódott el az egészséges kontroll csoporthoz képest, ami vélhetően kedvezőtlen a hyperlipidaemiás betegek szempontjából. Ugyanakkor ezek az eltérések nem jelentős mértékűek, és az alkalmazott módszer akár jelentős mértékben módosíthatja a kapott eredményt ugyanazon betegcsoporton belül is, ami ráirányítja a figyelmet a HDL funkciós vizsgálatok jelentőségére, melyek közül a HDL felszínén egymáshoz fizikai közelségben elhelyezkedő PON1 aktivitását és az MPO szintjét vizsgáltuk a betegek szérum mintáiból.

Sem a PON1 paraoxonáz, sem az arileszteráz aktivitás nem mutatott szignifikáns eltérést az egészséges kontroll csoporthoz viszonyítva. A PON1 aktivitás egyénenkénti igen nagy, akár 40-szeres variabilitása azonban megnehezíti az értékelést. Mivel a PON1 génpolimorfizmusai, elsősorban a PON1-Q192R ebben jelentős szerepet játszik [208, 209], kettős szubsztrát módszerrel meghatároztuk a betegek és a kontrollok fenotípus megoszlását, mely mindkét csoportban követte a Hardy-Weinberg egyensúlyt és nem mutatott szignifikáns eltérést egymástól. Mindez alátámasztja azt az általános szakmai véleményt, mely szerint önmagában a PON1 aktivitás mérése nem elegendő a HDL funkció értékelésére, ezért, mint biomarker, alkalmatlan a kardiovaszkuláris kockázat felmérésére.

A prooxidáns, szérum MPO szintjét azonban szignifikánsan nagyobbak találtuk az egészséges kontrol csoporthoz képest. Mivel a HDL felszínén a PON1 és az MPO egymásra kölcsönösen gátló hatást fejtenek ki, korábbi tanulmányok felvetették az MPO/PON1 arány, mint HDL diszfunkció indikátor alkalmazásának lehetőségét a szív- és érrendszeri betegségek kockázatbecslésére [77]. Meghatározva az MPO/PON1 arányt, az szignifikánsan nagyobbak bizonyult a hyperlipidaemiás betegekben a kontroll populációhoz viszonyítva, jelezve a HDL funkciójának prooxidáns irányú eltolódását.

A vizsgálat korlátai közül a viszonylag alacsony betegszám és a fiatalabb kontroll populáció emelendő ki, bár a vizsgált paraméterek ezúttal sem mutattak korfüggést. Egyéb HDL funkciós tesztek, például a HDL koleszterin efflux meghatározás, vagy más, HDL-hez kötött enzimek, például az LCAT vagy PAFAH aktivitásának mérése további adalékul szolgálhatna a HDL funkció értékelésében. A vizsgálat újdonságát a vizsgált paramétereket egyébként jelentősen befolyásoló lipidcsökkentő kezelés hiánya és a HDL összetétel és funkció együttes vizsgálata szolgáltatja.

5.2. Az atorvastatin kezelés hatása a HDL funkciójára és összetételére

A hyperlipidaemia gyógyszeres kezelésének alapja jelenleg is a statin kezelés, azonban az egyes statin készítmények nem-lipid hatásai, köztük antioxidáns tulajdonságai jelentősen eltérőek lehetnek. Egy korábbi tanulmány arról számolt be, hogy az atorvastatin hidroxilált metabolitjai képesek kivédeni az egyes lipoprotein frakciók rézion, szabadgyök vagy makrofág indukálta *in vitro* oxidációját [44]. Egy másik vizsgálat azt igazolta, hogy az atorvastatin o-hidroxi metabolitja dózisfüggő módon gátolja az LDL oxidációját, míg más statin ágensek jóval kisebb mértékben fejtettek ki gátló hatást [210]. Az atorvastatin aktív metabolitjai emellett gátolják az arachidonsavból oxidációval történő izoprosztan képződését, valamint az oxidatív stressz hatására kialakuló membrán koleszterin domének megjelenését a foszfolipid vezikulákban. Az atorvastatin tehát kifejezett antioxidáns tulajdonságokkal rendelkezik.

5.2.1. Az atorvastatin kezelés hatásának vizsgálata a PON1 aktivitásra és a Comet assay-vel detektált oxidatív DNS-károsodásra

Az LDL oxidatív módosulása az érlelmeszesedés kialakulásának egyik legfontosabb kezdeti lépése, mely kulcsszerepet játszik a gyulladásos sejtek aktivációjában, érfalba történő bejutásában és a makrofágok habos sejtekké történő átalakulásában. Emellett csökkenti az NO szintjét, mely a gyulladásos folyamatokkal együtt endothel diszfunkciót eredményez [211]. Az LDL oxidációja kapcsán, a többszörösen telített zsírsavak peroxidációja során képződött lipid peroxidok egy láncreakció végeredményeként igen reaktív végtermékek, köztük MDA, 4-hidroxi alkánok és 2-alkének keletkezését okozzák, melyek DNS szerkezetének jelentős károsodását, annak fragmentációját, DNS keresztkötések és adduktok kialakulásához vezetnek, ezáltal mutagének [212]. A HDL-hez kötött PON1 a lipid peroxidok hidrolízise révén az LDL oxidációt képes gátolni [213]. Munkacsoportunk korábban már igazolta a PON1 aktivitás és a comet assay-vel detektált oxidatív DNS károsodás mértéke közötti negatív korrelációt hyperlipidaemiás betegeknél [214].

Hatékony lipidcsökkentő és antioxidáns tulajdonsága miatt vizsgáltuk három hónapos atorvastatin kezelés hatását a PON1 aktivitásra, a szuperoxid anion és TBARS szintekre és a comet assay-vel detektált oxidatív DNS károsodásra hyperlipidaemiás betegeknél.

A kezelés az irodalmi adatoknak megfelelő mértékben csökkentette az összkoleszterin és az LDL-C szintet [215, 216], míg nem találtunk szignifikáns eltérést a HDL-C és triglicerid szintek tekintetében. Az atorvastatin kezelés HDL-re kifejtett hatása egyes korábbi vizsgálatokban kedvező volt [216-218], mások nem találtak szignifikáns HDL-C emelkedést a kezelés során [219]. Az atorvastatin csökkentette az oxidált LDL [218] és a tömegspektrometriás módszerrel meghatározott oxidatív markere szintjét [220]. Egy másik statin, a simvastatin pedig csökkentette az lipid preoxidációs markereként széles körben használt TBARS szintjét [221]. Az atorvastatin PON1 aktivitásra gyakorolt kedvező hatásai is ismertek [222]. Vizsgálatunkban a három hónapos atorvastatin kezelés szignifikánsan emelte a PON1 paraoxonáz aktivitást, míg a só stimulált paraoxonáz aktivitás és az arilészteráz aktivitás nem változott szignifikáns mértékben. A PON1 szérum koncentrációjában sem találtunk szignifikáns változást, de az egységnyi HDL-re jutó PON1 paraoxonáz aktivitás, azaz PON1/HDL arány szignifikánsan nőtt a kezelés hatására. A PMA indukált szuperoxid anion és a TBARS szint szignifikánsan csökkent, vagyis eredményeink alátámasztják az atorvastatin korábban leírt kedvező hatásait az oxidatív folyamatokra. A nyugalmi állapotban mért szuperoxid anion szint nem változott szignifikánsan a kezelés során. Az FMLP indukált szuperoxid anion termelés ugyanakkor szignifikánsan emelkedett. Egy korábbi *in vitro* vizsgálat hasonló eredményre jutott, melyet az FMLP receptor útvonal módosulásával magyaráztak [223]. Ennek oka a hyperlipidaemia következtében a polimorfonukleáris sejtek megváltozott membránfluiditása lehet, mely mind az FMLP receptor, mind a PKC aktivitását befolyásolhatja [224]. A lipid preoxidációra gátló hatást kifejtő plazma NO szint nem szignifikáns mértékben, de emelkedett az atorvastatin kezelés során, mely eredmény egybeesik azon korábbi vizsgálatokkal, melyben az atorvastatin emelte a NOS expresszióját az endothel sejtekben az mRNS stabilitásának fokozásán keresztül [225].

A fibrátok, ezen belül a ciprofibrát comet assay-vel mért oxidatív DNS károsodásra kifejtett kedvező hatásása az irodalomból ismert [226]. Egy *in vitro* tanulmány pedig fluvastatin DNS károsodást gátló hatásáról számolt be [227]. Vizsgálatunk eredményei szerint az atorvastatin kezelés szignifikánsan csökkentette a comet-assay-vel detektált oxidatív DNS károsodás mértékét. A visual score eredmények negatívan korreláltak az antioxidáns hatást jellemző PON1 paraoxonáz aktivitással és a só stimulált paraoxonáz

aktivitással a kezelés előtt és után egyaránt, míg az enzim szintjével korreláló arilészteráz aktivitással nem találtunk hasonló összefüggést. Mindez arra utal, hogy az oxidatív DNS károsodás mértékének csökkentésében a PON1 paraoxonáz aktivitás fontos szerepet játszik, míg az enzim szérumszintje kevésbé meghatározó.

A vizsgálat korlátját az alacsony betegszám jelentheti, egyéb DNS károsodásra jellemző paraméterek, például a 8-oxo-dihidrodeoxipurin mérése alátámaszthatná a comet assay eredményét. Nem vizsgáltuk egyéb dózisok hatását a megadott paraméterekre. A vizsgálat ugyanakkor elsőként igazolta humán beteganyagon a statinok, ezen belül az atorvastatin kedvező hatását az oxidatív DNS károsodásra, és talált összefüggést a PON1 aktivitással ennek mértékét tekintve.

5.2.2. Az atorvastatin kezelés hatásának vizsgálata a HDL szubfrakciókra és a HDL-hez kötött enzimek (PON1, LCAT és CETP) aktivitására

Az atorvastatin az irodalmi adatoknak megfelelő mértékben, a várt módon csökkentette az összkoleszterin, a triglicerid, az LDL-C és az ApoB szintjét, valamint az LDL-C/ApoB arányát, igazolva az atorvastatin hatékony HMG-KoA reduktáz gátló hatékonyságát.

Ismert, hogy az atorvastatin kiemelkedő antioxidáns hatékonysággal rendelkezik, mely megkülönbözteti más statin ágensektől [210]. A három hónapos atorvastatin kezelés hatására kialakult szignifikáns oxLDL szint csökkenést mindez magyarázhatja. Az oxLDL csökkent szintje miatt a kedvező mértékű PON1 aktivitás megmaradt, mely részben magyarázatul szolgálhat a jelzett, nem szignifikáns mértékű PON1 paraoxonáz aktivitás emelkedésre.

A HDL szubfrakciók jelentőségét az érlelmeszesedés kialakulásában, az utóbbi évtizedekben sokan, sokféle módszerrel vizsgálták, igen eltérő eredménnyel, mely részben a módszertani, részben a vizsgált betegcsoportok terén megfigyelhető eltérésekkel magyarázható. A HDL3 szubfrakció védő szerepét korábban már több szerző igazolta [228, 229]. Korábbi eredmények alapján a simvastatin és a fluvastatin kezelés emelte a HDL3 szubfrakció arányát hyperlipidaemiás betegeknél [230, 231], bár az alkalmazott ultracentrifugálással történő meghatározás, ellentétben egyéb módszerekkel, általában magasabb arányú kis, lipidben szegény frakciókat mér. Korábban az atorvastatin kezelés hatását az LDL és HDL szubfrakciókra csak kevesen vizsgálták, és a kapott eredmények igen eltérőek részben a vizsgált betegcsoport jellegéből, részben az

alkalmazott atorvastatin dózistól, részben a szubfrakció meghatározásra használt módszertől függően [215, 232-234]. Saját vizsgálatunkban a három hónapos atorvastatin kezelés hatására szignifikánsan nőtt a HDL3 szubfrakció aránya, míg a HDL2a és 2b szubfrakciók aránya ennek megfelelően csökkent. Mivel a PON1 döntően a HDL3 szubfrakcióhoz kötődik, a szubfrakciókban észlelt eltolódás is hozzájárulhat a jelzett PON1 aktivitás növekedéshez. Emellett szignifikánsan nőtt az átlagos LDL méret, mely az éremeszesedés szempontjából kedvezőtlen, kicsi, sűrű LDL részecskék arányának csökkenésére utal, egybehangzóan számos irodalmi adattal [233-236].

A CETP szerepe a lipid partikulumok érésében ismert, képes a HDL-hez kövődve koleszterin-észtert átadni az ApoB tartalmú lipoproteineknek, míg ezzel egyidőben trigliceridet juttat a HDL részecskére, megváltoztatva ezzel annak összetételét és elősegítve a kisebb, lipidszegény HDL3 szubfrakció kialakulását. A CETP emellett szükséges a HDL és scavenger receptor B1 interakcióhoz és a koleszterin észter májba történő szelektív felvételéhez, valamint szerepet játszik az intracelluláris koleszterin metabolizmusban [237]. A CETP gátlók jelentősen emelik az ApoA1 és a HDL szintjét [238]. Korábbi vizsgálatok alapján az atorvastatin csökkenti a CETP aktivitását [215, 239]. Jelen vizsgálatunkban szintén a CETP aktivitás szignifikáns csökkenését tapasztaltuk. Ez felelhet a HDL3 szubfrakció arányának emelkedéséhez, melyet alátámaszt a HDL3 százalékos aránya és a CETP aktivitás közötti szignifikáns negatív korreláció. A CETP aktivitás negatívan, szignifikancia szintet éppen elérő mértékben korrelált a HDL2a aránnyal, a CETP aktivitás változása viszont szignifikáns negatív korrelációt mutatott a HDL2a arány változásával. A HDL2b szubfrakció aránya ugyanakkor szignifikáns pozitív összefüggést mutatott a CETP aktivitással, mely alátámasztja a CETP központi szerepét a szubfrakciók kialakulásában. Eredményeink egybevágóak egy korábbi vizsgálat eredményeivel [240], bár ettől eltérő adatokat is közöltek [241].

Bár egy korábbi vizsgálatban az LCAT aktivitás és a nagy HDL2a szubfrakció között negatív korrelációt írtak le [241], saját vizsgálatunkban nem találtunk szignifikáns összefüggést az LCAT aktivitás és a szubfrakciók aránya között. Ugyanakkor, az atorvastatin kezelés hatására szignifikánsan nőtt az LCAT aktivitás, és ennek változása pozitívan korrelált a HDL2a szubfrakció arányának változásával, mely megfigyelés okainak tisztázása további vizsgálatokat igényel.

Az atorvastatin kedvező hatását a PON1 szintre és aktivitásra FH betegen korábban már leírták [242]. Egy másik vizsgálat azt igazolta, hogy bár a PON1 egyformán képes kötődni az ApoA1 és ApoA2 tartalmú HDL részecskékhez, az ApoA1-et és ApoA2-t is tartalmazó HDL részecskékhez kötött PON1 jobban ellenáll az oxidatív stressz okozta PON1 inaktivációnak, mint a csak ApoA1-et tartalmazó HDL-hez kötött PON1 [243]. Bár a PON1 aktivitás és a szubfrakciók megoszlása között nem találtunk összefüggést, a HDL3 szubfrakció arányának növekedése, mely nagyobb arányban tartalmaz ApoA1/A2 tartalmú partikulumokat, hozzájárulhat a PON1 aktivitás megőrzéséhez. A vizsgálat korlátai között az alacsony betegszám, az ApoJ, ApoA1 és A2 arány mérésének hiánya említendő.

Bár az atorvastatin kezelés során vizsgált paramétereket külön-külön már többnyire vizsgálták korábban, komplex módon hyperlipidaemiás betegekben először kerültek közlésre.

5.3. Az ezetimib kezelés HDL szintre kifejtett hatékonyságát befolyásoló genetikai tényezők vizsgálata

A koleszterin anyagcsere endogén és exogén útvonalát, és ezen keresztül a szérumban a koleszterin és triglicerid szintjét is jelentősen befolyásolják a résztvevő fehérjék, köztük az apolipoproteinek, enzimek és receptorfehérjék génpolimorfizmusai. Az utóbbi időben egyre nagyobb figyelem irányul a gyógyításban a személyre szabott orvoslásra. Ennek során figyelembe veszik az adott egyén jellemzőit, beleértve az alkalmazott terápiára adott választ is, melyet szintén nagymértékben az adott gyógyszer felszívódásában, hatásában és metabolizmusában résztvevő fehérjék génpolimorfizmusai szabnak meg. A genetikai vizsgálatok elterjedésével, a metodika ugrásszerű fejlődésével, az ehhez kapcsolódó adatfeldolgozás felgyorsulásával és az genetikai adatbankok egyre szélesebb körű elérhetőségével exponenciálisan nőnek az ismeretek a génpolimorfizmusok szerepével kapcsolatban, bár az eredmények gyakran további kérdéseket vetnek fel. Mégis, ezek az információk segíthetnek megérteni azt a gyakorló orvosok számára ismert jelenséget, hogy az egyes betegek számára egyik vagy másik kezelés igen eltérő hatékonyságú, ami a nagy betegszámú multicentrikus randomizált tanulmányok eredményein nyugvó

terápiás irányelvek világában nehezíti az adott egyén számára ideális kezelési mód kialakítását.

Az ezetimib a vékonybélben történő koleszterin felszívódás gátlásán keresztül fejti ki hatását [140]. Statin kezeléssel kombinálva igen jelentős, akár 65%-os LDL-C csökkentésre képes [244]. Az ezetimib a jelenlegi terápiás irányelvek alapján monoterápiában csak az abszolút statin intoleráns betegek esetén ajánlott. Bár monoterápiában az LDL-C csökkentő hatása, mely átlagosan 18%-os, elmarad a hatékony statinokétól, kiváló tolerálhatósága miatt alkalmas kezelés a statin intoleráns betegek kezelésére a mindennapi klinikai gyakorlatban [245]. Ez a hatás azonban egyénenként igen jelentős eltéréseket mutat, egyeseknél alig van mérhető LDL-C csökkenés, míg másoknál akár az 50%-ot is elérheti attól függően, hogy az egyén inkább „felszívó” vagy „szintetizáló” típusba tartozik [114]. Az eltérések mögött ebben az esetben is génpolimorfizmusok állnak, mely közül az ApoE és a NPC1L1 génjeinek polimorfizmusait vizsgáltuk.

5.3.1. Az ApoE génpolimorfizmus ezetimib monoterápia hatékonyságára gyakorolt hatásának vizsgálata statin intoleráns betegekben

A koleszterin anyagcserét befolyásoló génpolimorfizmusok közül az egyik legjelentősebb az ApoE polimorfizmus hatása. Az ApoE az endogén koleszterin anyagcsere egyik kiemelt szereplője. Mind a trigliceridben gazdag lipoproteinek, mind a HDL részecskék fontos összetevője. Polimorfizmusa alapvetően befolyásolja a bélben történő koleszterin felszívódás hatékonyságát [246, 247], a szterolok májba történő receptor-mediált felvételét [248], a máj koleszterin termelését és az LDL receptorok expresszióját [248]. Korábbi vizsgálatok alapján az $\epsilon 2$ allél hordozók esetén a leghatékonyabb a bélből történő koleszterin felszívódás, míg az $\epsilon 3$ allél jelenléte esetén közepes, az $\epsilon 4$ allél esetén alacsony a felszívódás mértéke. Ugyanakkor a koleszterin szintézis ezzel ellentétesen $\epsilon 2$ allél hordozás esetén a legnagyobb mértékű, és az $\epsilon 4$ allél jelenléte esetén a legalacsonyabb. Vizsgálatunkban statin intoleráns hyperlipidaemiás betegeken értékeltük az ApoE polimorfizmusnak az ezetimib monoterápia hatékonyságára kifejtett rövid és hosszútávú hatását. Az ezetimib kezelés a teljes betegpopuláción az egy éves követés során az irodalmi adatoknak megfelelően szignifikánsan csökkentette az összkoleszterin, az LDL-C, a triglicerid, és az ApoB szintjét, míg a HDL-C és az ApoA1 szintje nem változott szignifikáns mértékben. A CRP szintje három és hat hónapos kezelés során

szignifikánsan csökkent, mely hatás az első év végére már nem bizonyult szignifikánsnak. Egy korábbi vizsgálatban a CRP szint csökkenését észlelték, de a legtöbb vizsgálat nem igazolt szignifikáns csökkenést az ezetimib kezelés hatására [249]. A betegek ApoE genotípus és allél megoszlása a vizsgált betegek esetén lényegében megegyezett a korábbi hazai populáción találtakkal [250, 251]. A különböző genotípusú betegek kiindulási lipidparaméterei szignifikánsan nem tértek el, bár az ε2 hordozók esetén tendenciáját tekintve magasabb triglicerid és alacsonyabb LDL-C szinteket észleltünk. Az ezetimib kezelés hatására az összkoleszterin és LDL-C csökkenés kifejezettebb volt a 3/4 genotípus esetén a 2/2 genotípushoz viszonyítva, míg a trigliceridszint csökkenés a 2/2 genotípus esetén bizonyult a legnagyobb mértékűnek, de a csoportok közötti különbségek nem voltak szignifikáns mértékűek. A betegek a kezelést jól tolerálták, a kezelés elhagyására vagy felfüggesztésére mellékhatás kialakulása miatt egyetlen esetben sem került sor. A vizsgálat korlátját az alacsony esetszám, különösen az ApoE 2/2 és 2/3 genotípusú betegek alacsony száma jelenti. Eredményeink alátámasztják az ezetimib monoterápia rövid és hosszútávú hatékonyságát és igazolják az ezetimib kezelés biztonságos voltát. Elsőként vizsgáltuk, a szokásosnál hosszabb, egy éves követési periódussal, az ApoE polimorfizmus befolyásoló szerepét az ezetimib monoterápia hatékonyságára, azonban ennek igazolására nagyobb betegszámú populáción elvégzett vizsgálatok szükségesek.

5.3.2. A NPC1L1 génpolimorfizmusok ezetimib monoterápia hatékonyságára gyakorolt hatásának vizsgálata statin intoleráns betegekben

A NPC1L1 a vékonybélhámsejtek kefeszegélyén elhelyezkedő transzport fehérje, mely számos szterol molekula, köztük a koleszterin bélből történő felszívódásáért felel. Génjében számos polimorfizmust írtak le, melyek közül a NPC1L1 c.-133 A>G promóter polimorfizmus esetén korábban kimutatták a statin és a kombinált statin+ezetimib kezelés [252, 253] hatékonyságának eltéréseit. Az ezetimib monoterápiára gyakorolt hatásáról azonban korábban nem volt adat. Ezetimib monoterápiában részesülő statin intoleráns betegeket követtünk egy éven keresztül, és értékeltük a fenti polimorfizmus hatását a kezelés hatékonyságára. A teljes vizsgálati populációban a kezelés az irodalmi adatoknak megfelelően befolyásolta a lipid paramétereket, szignifikáns mértékben csökkentve az összkoleszterin, LDL-C, ApoB és triglicerid szinteket. A genotípus megoszlás és az allélfrekvencia megfelelt egy korábbi vizsgálatban közöltekkel [171]. A GG genotípus

alacsony aránya miatt a betegeket csak A allélt hordozó AA és G allélt hordozó AG+GG csoportba osztottuk. A két vizsgált csoport között a kiindulási lipid paraméterekben nem volt szignifikáns eltérés. Az egy éves ezetimib kezelés a két csoportban egyedül az ApoA1 szintek változásában mutatott szignifikáns és következetes eltérést. Míg az AA csoportban nem szignifikáns, mérsékelt csökkenést, addig az AG+GG csoportban szignifikáns, jelentős mértékű emelkedést tapasztaltunk az ApoA1 szintekben végig a kezelés során. Bár a HDL-C szintek az ApoA1 szintjéhez hasonlóan ellentétes irányban változtak a két csoportban, az eltérések nem bizonyultak szignifikáns mértékűnek. Az eredmények alapján felmerül a HDL szerkezeti módosulása az ezetimib kezelés hatására, mely egyúttal a HDL funkcióját is befolyásolhatja. A betegek a kezelést ezúttal is jól tolerálták, bár egy beteg átmeneti fejfájásról számolt be, mellékhatás miatt nem volt szükség a kezelés leállítására.

A vizsgálat korlátja a relatíve kis betegszám, melynek növelésével valószínűleg a HDL-C szint esetén is kimutatható lenne a szignifikáns eltérés a két csoport között. Elsőként igazoltuk, hogy az ezetimib monoterápia ApoA1 szintre kifejtett hatékonyságát jelentősen befolyásolja a NPC1L1 c.-133 A>G promóter polimorfizmus, mely a HDL struktúrájának változásán keresztül annak érlelmeszedést gátló tulajdonságait is befolyásolhatja.

5.4. A szelektív LDL aferezis kezelés hatásának vizsgálata egyes biológiailag aktív fehérje szintekre súlyos heterozigóta familiáris hypercholesterinaemiás betegekben

5.4.1. A szelektív LDL aferezis kezelés hatásának vizsgálata a szérumban chemerin szintekre súlyos heterozigóta familiáris hypercholesterinaemiás betegekben

A korábbi irodalmi adatoknak megfelelően a szelektív LDL aferezis kezelés szignifikánsan csökkentette az FH betegek összkoleszterin, LDL-C és Lp(a) szintjét. Emellett az aferezis kezelés pleiotróp hatásairól is vannak irodalmi adatok, mely szerint a kezelés csökkenti számos gyulladásos citokin, kemokin és adhézions molekula, továbbá a CRP plazmaszintjét [254]. Bár e hatások pontos mechanizmusa nem tisztázott, mind az oszlophoz történő direkt kötődés, mind az indirekt, az említett fehérjék génexpresszióján keresztül megvalósuló hatás lehetősége felmerült. Az LDL aferezis előtt és után elvégzett proteomikai analízis során több mint hetven fehérje csökkent szintjét igazolták, melyek között a véralvadási kaszkádban szereplő, gyulladásos, adhézions és rheológiai

szempontból egyéb fontos fehérjék szerepelnek. A szerzők véleménye szerint egyes fehérjék erősen kötődnek az alkalmazott oszlop felületéhez, míg mások szintje egyéb mechanizmusok révén csökkenhet [174]. Korábban a chemerin szintek változását az aferezis kezelés során nem vizsgálták, így hat súlyos heterozigóta FH beteg első kezelése során a lipidparaméterek mellett a chemerin szintet, valamint az LDL és HDL szubfrakciók arányát is meghatároztuk. A kezelés hatására a szérumban a chemerin szintje minden beteg esetén csökkent, a változás szignifikáns mértékűnek bizonyult. Egy beteg esetén, hosszútávon, egy éven keresztül követtük a chemerin szintek alakulását, mely kezelésről kezelésre csökkent, majd a kezelés átmeneti felfüggesztését követően ismét megközelítette a kiindulási értéket. Az újabb rendszeres kezelésekre hatására a chemerin szintje ismét jelentősen csökkent. Mivel a chemerin pro-inflammatorikus és pro-atherogén hatással rendelkezik, a szelektív LDL aferezis kezelés chemerin szint csökkentő hatása hozzájárulhat a kezelés hosszútávú kedvező eredményeihez az érlemezéssel járó szövődmények kialakulása szempontjából. A chemerin csökkentés mechanizmusának tisztázása céljából a kezelést követően a fehérjéket az alkalmazott oszlopról eluáltuk, és az eluáló oldatban jelentős mennyiségű chemerint mutattunk ki, igazolva az oszlophoz történő kikötődést. Bár nem találtunk irodalmi adatot a chemerin felszíni töltését illetően, feltételeztük, hogy a negatív töltésű felülethez a többszörösen pozitív töltésű ApoB100-hoz hasonlóan képes kikötődni. Ugyanakkor felmerülhet az is, hogy a chemerin egy másik, pozitív töltésű molekulához vagy lipoproteinhez kapcsolódva kötődik az oszlophoz indirekt módon.

Korábban már vizsgálták az LDL szubfrakciók változását az LDL aferezis során, és azt találták, hogy a kisebb, sűrűbb LDL részecskéket nagyobb arányban távolítja el a rendszer, és a szubfrakciós mintázat anti-atherogén irányba tolódik el [255, 256]. Vizsgálatunk során a kifejezetten atherogén, kicsi, sűrű LDL részecskék szintje és aránya is szignifikánsan csökkent. Ezek a részecskék oxidációra fokozottan hajlamosak, így kulcsszerepet játszanak az érlemezés kezdeti szakaszában, így az LDL szubfrakciókra kifejtett hatás különösen nagy jelentőséggel bírhat ebben az egyébként is nagyon nagy kardiovaszkuláris kockázattal rendelkező betegcsoportban. A HDL szubfrakciók vizsgálata során a kis HDL szubfrakció arányának csökkenését, valamint a közepes és nagy HDL szubfrakciók arányának tendenciózus növekedését tapasztaltuk a HDL-C szint mérsékelt csökkenése mellett. Mivel általánosan elfogadott, hogy a nagyobb

HDL szubfrakciók a reverz koleszterin transzportban betöltött szerepük miatt anti-atherogén hatást fejtenek ki, a HDL szubfrakciók arányának eltolódását a nagyobb részecskék felé szintén kedvezőnek tartjuk a betegek szempontjából. Mivel egy korábbi vizsgálatunkban azt találtuk, hogy a keringő chemerin szint pozitívan korrelál a kicsi, sűrű LDL szintjével, valamint a kicsi HDL szubfrakcióval, felvetődött, hogy a chemerin egyéb pro-atherogén tulajdonságai mellett talán kedvezőtlen hatást gyakorol a lipoproteinek metabolizmusára [103]. Ugyanakkor a kezelés során észlelt változások inkább arra utalhatnak, hogy a chemerin legalább részben e szubfrakcióhoz kötődik a keringésben. A chemerin szint és a lipoproteinek metabolizmusának összefüggését további vizsgálatok tisztázhatják.

Bár a vizsgálatba bevont betegek száma igen alacsony, elsőként bizonyítottuk a szelektív LDL aferezis kezelés szérumban chemerin szintet csökkentő hatását rövid és hosszútávon egyaránt, emellett adatokkal szolgáltunk a csökkenés mechanizmusát illetően, kimutatva a chemerin oszlophoz történő kikötődését.

5.4.2. A szelektív LDL aferezis kezelés hatásának vizsgálata a szérumban afamin és E-vitamin szintekre

A tokoferol a lipoproteinekhez kötődő egyik leghatékonyabb antioxidáns, de összefüggését a FH betegek afamin szérumban szintjével, illetve az LDL aferezis kezelés hatását a tokoferol és afamin szintekre korábban nem vizsgálták együttesen. Az irodalmi adatok alapján az afamin fontos szerepet játszik a sejtek anti-apoptotikus válaszában az oxidatív folyamatok során [257], és ígéretes új marker lehet 2-es típusú diabetes mellitusban [258], valamint a terhesség során kialakuló anyagcsere rendellenességekben [259]. Az afamin emellett szolubilizálja a hidrofób, nehezen oldódó Wnt fehérjéket, amelyek számos alapvető sejtfolymat, köztük az őssejt regeneráció, csontképződés, és karcinogenezis szabályozásában vesznek részt [260]. FH betegekben a fokozott oxidatív stressz és a csökkent csontsűrűség megjelenése jól ismert [261, 262]. Eredményeink alapján az afamin szintje ebben a súlyos FH betegcsoportban a kontroll csoportéhoz képest magasabb. Bár ennek pontos oka nem ismert, talán a fenti, FH-ban észlelt eltérésekre adott védekező válaszreakció részét képezi. Bár a kis esetszám miatt vizsgálatunk pilot jellegű, eredményeink alapján a szelektív LDL aferezis kezelés során szignifikáns mértékben csökkent a szérumban afamin szint, átlagosan 9,4%-kal. Ezzel párhuzamosan a

HDL-C és Az ApoA1 szint is csökkent. Mivel az afaminnak csak kisebb hányada, kb. 13%-a kötődik a HDL-hez, a mérsékelt HDL-C szint csökkenés nem magyarázza a jelentős afamin szint csökkenését. Az afamin/HDL-C és az afamin/ApoA1 arány nem is változott szignifikáns mértékben a kezelés hatására. Korábbi vizsgálatok során azt igazolták, hogy a HDL részecskék közül az afamin főként a kicsi, nagyon sűrű szubfrakcióhoz kötődik [94]. Mivel vizsgálatunkban a kezelés hatására a HDL szubfrakciókon belül a nagyobb szubfrakció felé találtunk eltolódást, a kezelés során eltávolított kisebb HDL részecskék legalább részben felelősek lehetnek az afamin szintjének csökkenéséért. Ugyanakkor valószínűleg számos egyéb szérumfehérje képes kötni a keringésben az afamint. Az afamin direkt kötődése az oszlophoz lehetséges, de nem zárható ki, hogy az afamint kötő fehérjék kikötődése felel az afaminszint csökkenésért.

Korábbi *in vitro* és *in vivo* vizsgálatok igazolták, hogy az afamin több tokoferol kötőhellyel rendelkezik. Különösen nagy affinitással köti az α - és γ -tokoferolt, melyek az E-vitamin legfontosabb típusai [94, 263]. Mivel korábban beszámoltak a szelektív LDL aferezis kezelés α - és γ -tokoferol szintet csökkentő hatásáról [264-266], feltételeztük, hogy ennek oka az afamin szint csökkenése a kezelés során. Hasonlóan a korábbi vizsgálatokhoz, az α - és γ -tokoferol szint jelentős csökkenését tapasztaltuk az LDL aferezis kezelés során. Ugyanakkor, az igen jelentős összkoleszterinszint csökkenés következtében az α -tokoferol/összkoleszterin és a γ -tokoferol/összkoleszterin arányok szignifikánsan nőttek a kezelés hatására. Az α - és γ -tokoferol szint csökkenése sokkal nagyobb arányúnak bizonyult, mint az afaminszint csökkenés, és a tokoferolszint csökkenés jobban korrelált az LDL-C szint változásával, mint az afaminéval. Mindezek alapján a keringő α - és γ -tokoferol szintet az afamin szintje döntően nem befolyásolta. Mindez alátámasztja azt a korábbi megfigyelést, mely szerint a plazma afamin és E-vitamin szintje nem mutat szoros összefüggést, és az E-vitamin döntően lipoproteinekhez kötötten transzportált [94]. Érdekes módon a kontroll populációhoz képest az FH betegek kiindulási α - és γ -tokoferol szintje jelentősen magasabb. Korábbi vizsgálatok egyéb hiperlipidaemiás betegeknél hasonló eredményekről számoltak be [267], ugyanakkor egy másik tanulmány szerint az FH betegek α - és γ -tokoferol szintje az egészségesekéhez hasonló, ennek következtében az α -tokoferol/összkoleszterin és a γ -tokoferol/összkoleszterin arányok ebben a betegcsoportban alacsonyabbak [261].

Vélhetően a genetikai háttér és az alkalmazott kezelés különbségei magyarázzák az eltérő eredményeket. Mindenesetre a tokoferolok lipidoldékony természete miatt klinikai szempontból a α -tokoferol/összkoleszterin és a γ -tokoferol/összkoleszterin arányok használata valószínűleg fontosabb, mint az abszolút tokoferol szintek mérése. Ezen arányok emelkedése a kezelés hatására az oxidatív stresszre gyakorolt kedvező hatást tükrözheti, melyet az oxLDL szint jelentős csökkenése is alátámaszt. Az LDL aferezis kezelés oxLDL szint csökkentő hatása egyébként ismert, számos korábbi vizsgálatban bizonyított megfigyelés [268-270]. A csökkenés mértéke olyan kifejezett, hogy a kezelés végén mért értékek még a kontroll populáció oxLDL szintjénél is alacsonyabbak. Mindebből az is következik, hogy az oxLDL frakció vélhetően afaminban ugyan szegény, de jelentős mennyiségű tokoferolt köthet.

A HDL szubfrakciók változását az LDL aferezis kezelés hatására csak néhány esetben vizsgálták. Az eltérő kezelési módok és mérési módszerek miatt a korábbi adatok igen eltérőek, és nehezen összevethetők. Vizsgálatunkban a kis HDL frakció csökkenése szignifikánsan nagyobb volt, mint a nagy HDL szubfrakcióé, azonban ennek hosszútávú klinikai haszna nem egyértelmű. Az FH betegekben a kezelés előtt a kis HDL szubfrakció aránya szignifikánsan nagyobb, míg a nagy HDL szubfrakcióé szignifikánsan kisebb volt, mint a kontroll populációé. Mindezek alapján valószínű, hogy a kezdeti nem megfelelő arányt a HDL szubfrakciók megoszlásában az aferezis kezelés legalább részlegesen helyrehozza, így vélhetően kedvező hatású.

A vizsgálat kis esetszámon történt, így további, nagyobb betegcsoporton elvégzett tanulmányok szükségesek a kapott eredmények alátámasztására. A kapott eredmények adalékul szolgálnak az LDL aferezis kezelés nem-lipid hatásainak igazolásához. Meg kell jegyeznünk, hogy az FH betegek többsége ezetimib kezelésben részesült, ami befolyásolhatja az α - és γ -tokoferol szinteket [271, 272], azonban az ezetimib kezelés felfüggesztése ebben a nagyon nagy kockázatú betegcsoportban nem elfogadható.

6. Új eredmények

Fredrickson IIa és IIb típusú hyperlipidaemiában szenvedő betegekben:

1. Szignifikáns negatív korrelációt találtunk a PON1 paraoxonáz és só-stimulált paraoxonáz aktivitás és az artéria carotis intima média vastagság között a teljes vizsgált populációban 55 év alatti carotis szűkülettel rendelkező betegekben és kontrollokban.
2. Szignifikáns negatív korrelációt észleltünk a PON1 arileszteráz aktivitás és a MPO szintje között a teljes betegpopulációban, a vaszkuláris szövődménnyel rendelkező és nem rendelkező, lipidcsökkentő kezelésben nem részesülő hyperlipidaemiás betegekben. Az MPO szintje szignifikáns pozitív korrelációt mutatott az MMP-9 és a TIMP-1 szintekkel a teljes betegcsoportban, vaszkuláris megbetegedésben szenvedő és nem szenvedő, lipidcsökkentővel nem kezelt betegekben.
3. A PON1 arileszteráz aktivitás szignifikáns negatív, míg a MPO szint szignifikáns pozitív korrelációt mutatott a szérum sICAM-1, sCD40L és ADMA szintjével a teljes betegcsoportban vaszkuláris megbetegedésben szenvedő és nem szenvedő, lipidcsökkentő kezelésben nem részesülő betegekben.
4. Az atorvastatin kezelés szignifikánsan emelte a PON1 paraoxonáz aktivitást és szignifikánsan csökkentette a Comet assay-vel detektált oxidatív DNS-károsodás mértékét, melyek egymással szignifikáns negatív korrelációt mutattak.
5. Az atorvastatin kezelés szignifikáns módon befolyásolta a HDL-hez kötött PON1, LCAT és CETP aktivitását, valamint a HDL szubfrakciók megoszlását. A PON1 aktivitásának emeléséhez a HDL3 szubfrakció arányának növekedése is hozzájárulhat.
6. Az ApoE genotípus ezetimib kezelésre gyakorolt hatásának vizsgálata során azt találtuk, hogy a kiindulási össz- és LDL-C szintek a legmagasabbak az ApoE 2/2 és 3/3 genotípusú betegek, legalacsonyabbak a 2/3 genotípusú betegek esetében voltak. A legmagasabb triglicerid szintet a 2/2 és 2/3 genotípusú csoportban, a legalacsonyabbat a 3/4 genotípusú betegek esetében mértük. A HDL-C szintje 3/3

genotípusú betegekben volt a legmagasabb. A myopathiás betegek esetében a 3/3 genotípus ritkábban fordult elő. Bár az össz- és LDL-koleszterin és az apoB csökkenés kifejezettebb volt a 3/4 genotípusú csoportban a 2/2 genotípusú csoporthoz viszonyítva, és a trigliceridszint csökkenés kifejezettebb volt a 2/2 genotípusú csoportban a 3/4 genotípusú betegcsoporthoz képest, a különbség nem bizonyult szignifikánsnak.

7. A NPC1L1 c.-133A>G génpolimorfizmus szignifikáns módon befolyásolta az ezetimib monoterápia apolipoprotein A1 szintre kifejtett hatékonyságát statin intoleráns betegekben. Az AA genotípusú betegekkel szemben az AG+GG genotípusúak esetén az ApoA1 szintje szignifikánsan emelkedett az ezetimib kezelés hatására.

Súlyos familiáris hypercholesterinaemiában szenvedő betegekben:

8. Igazoltuk, hogy a szelektív LDL aferezis kezelés szignifikánsan csökkenti a szérumban a chemerin szintet már az első kezelés során, és a kedvező hatás a 12 hónapos követés során is megmaradt. A chemerin szint csökkenésért az alkalmazott aferezis oszlophoz történő kötődés tehető felelőssé.
9. A szelektív LDL aferezis kezelés mérsékelten, de szignifikáns mértékben csökkenti a szérumban az afamin és E vitamin (α - és γ -tokoferol) szintjét, de szignifikánsan emeli az α -tokoferol/koleszterin és a γ -tokoferol/koleszterin hányados szinteket. Az α - és γ -tokoferol szintjének csökkenéséért a transzportjukért felelős egyéb fehérjék és lipoproteinek eltávolítása felelhet.

7. Az eredmények gyakorlati jelentősége

Az irányelvek alapján optimálisnak tartott kezelés ellenére a betegek jelentős részénél kardiovaszkuláris megbetegedés alakul ki. Az érfali gyulladásos, immun és oxidatív folyamatok jelentős hányadát teszik ki ennek a maradék kockázatnak. A PON1 szerepét mind az érlelmeszesedés biomarkereként, mind lehetséges antioxidánsként, terápiás területen is számtalanszor felvetették [273]. A PON1 aktivitás és az IMT szoros kapcsolata a vizsgált 55 év alatti betegcsoportban arra utal, hogy a kockázatbecslés szempontjából a PON1 aktivitás mérés lényeges információ. Bár jelenleg sem a PON1 aktivitás, sem az azt befolyásoló polimorfizmusok meghatározása nem szerepel az irányelvekben, ez a jövőben változhat. Bár az enzim pótlása eddig csak organofoszfát mérgezés esetén vetődött fel, ez is egy jövőbeni terápiás lehetőség [274]. Az enzimaktivitás emelésének másik módja az antioxidánsok, például a magas polifenol tartalmú gránátalma fogyasztása [275, 276]. Az atorvastatin PON1 aktivitást emelő hatása figyelemre méltó tulajdonság. Az, hogy emellett az oxidatív stressz okozta DNS károsodás mértékét is csökkenti, részben magyarázza a statinok kedvező hatását a tumorgenezis és a demencia kialakulásának kockázatára [121, 277]. Folyamatban van több MPO inhibitor kifejlesztése [278, 279], így az MPO szint vagy aktivitás, valamint MPO/PON1 arány mérése segíthet azonosítani a terápia szempontjából ideális, magas MPO szintű betegeket, emellett a terápia hatékonyságának követésére is alkalmas lehet. Az atorvastatin globális kedvező hatása a HDL-hez kötött enzimek aktivitására arra utal, hogy az atorvastatin ideális választás lehet azoknak, akiknél fokozott az oxidatív stressz. [116]. Az ezetimib hatékonysága egyénenként igen eltérő a genetikai variabilitásnak köszönhetően [280, 281]. Az ún. farmakogének, azaz a gyógyszeres terápia hatékonyságát meghatározó gének azonosításával valóban egyénre szabott terápiás megoldásokat tehet lehetővé [282]. Az általunk leírt ApoE és NPC1L1 promóter polimorfizmusok ezetimib hatékonyságra kifejtett hatása adalékul szolgálhat a farmakogénnekkel kapcsolatos kutatásokhoz. A szelektív LDL aferezis kezelés során a célzott lipidcsökkentő hatás mellett egyéb fehérjék szérumszintjét is befolyásolhatjuk. Ezek ismerete segíthet megérteni a kezelés hatását, de felhívhatja a figyelmet kedvezőtlen járulékos hatásokra is, melyek a terápiás eszköz továbbfejlesztéséhez, vagy a terápia kiegészítéséhez, módosításához vezethetnek, akár új indikációk megjelenésével.

8. Köszönetnyilvánítás

Kiemelt köszönet illeti Paragh György Professzor urat, aki PhD témavezetőként, majd intézet- és tanszékvezetőként, valamint mentorként támogatta és végigkísérte tudományos munkámat.

Köszönettel tartozom Kakuk György Professzor úrnak, aki lehetővé tette, hogy nappali tagozatos PhD hallgatóként, később rezidensként a Belgyógyászati Intézetben dolgozhattam.

Köszönet illeti Buzás Edit Professzornőt, aki tudományos diákköri hallgatóként felkeltette érdeklődésemet a tudomány és a laboratóriumi munka iránt.

Hálás vagyok Gerd Schmitz Professzor úrnak és köszönöm Charalampos Aslanidis és Wolfgang Kaminski segítségét, akiktől a Regensburgi Egyetemen töltött időszakban sokat tanultam. Sokat köszönhetek Remenyik Éva Professzornőnek és Emri Gabriellának a Comet assay-vel történt munkákban nyújtott segítségért és támogatásért.

Hálásan köszönöm Seres Ildikó Tanárnő állandó szakmai segítségét és baráti támogatását a kezdetektől a mai napig. Köszönöm Lőrincz Hajnalka, Katkó Mónika és a Kutató Laboratórium összes dolgozója által nyújtott rengeteg segítséget.

Köszönöm Bereczki Dániel Professzor úrnak és Magyar Tünde Tanárnőnek a közös munkában nyújtott támogatását.

Hálás vagyok Balogh István Tanár úr és Madar László támogatásáért és a genetikai vizsgálatokban nyújtott segítségéért.

Köszönet illeti Balla József Professzor Urat és Soltész Pál Professzor urat, akik lehetővé tették a szelektív LDL aferezis kezelések elindítását és támogatták a kapcsolódó tudományos kutatásokat.

Köszönöm minden társszerző kollégám értékes hozzájárulását.

Hálás vagyok kitűnően végzett PhD hallgatóim: Dr. Zsíros Noémi, Varga Viktória Evelin és Szentpéteri Anita lelkes és odaadó munkájáért. Köszönöm minden TDK és PhD hallgatóm segítségét.

A kutatásokhoz elengedhetetlen a betegek és egészséges önkéntesek részvétele, melyért hálás vagyok.

Végül, de nem utolsó sorban nagy köszönet illeti családomat, akik végigkísértek és támogattak az eddigi utamon. Édesapámnak, aki örök példaképem emberi és szakmai szempontból egyaránt. Édesanyámnak, aki nélkül nem boldogulnék. Páromnak, Dorner

Zsoltnak, és gyermekeimnek: Annának és Gergőnek, akiknél jobbat nem kívánhatok.
Köszönet Vargáné Oláh Annának és Varga Józsefnek, akik mindig támaszaim voltak.

Vizsgálatainkat a TÁMOP 4.2.4. A/2-11-1-2012-0001 “Nemzeti Kiválóság Program”, TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0031 számú projektek, a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alap (OTKA 84196 és 115723) és a DEOEC Mec-7/2008 támogatták. A munkánkat támogatta továbbá a Debreceni Egyetem Orvos-, és Egészségtudományi Centrum Áthidaló Alapja (IB). A projektek az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósultak meg.

Készült a GINOP-2.3.2-15-2016-00005 „A magyar gazdaság versenyképességének növelése a lakosság egészségi állapotát javító népegészségügyi intervenciók célcsoportjainak és tartalmának azonosítása révén” című projekt támogatásával.

9. Publikációk

9.2. Az értekezést megalapozó in extenso közlemények

Harangi M, Seres I, Magyar MT, Csipo I, Sipka S, Valikovics A, Csiba L, Bereczki D, Paragh G. Association between human paraoxonase 1 activity and intima-media thickness in subjects under 55 years of age with carotid artery disease. *Cerebrovasc Dis.* 2008; 25(1-2):122-8.

Zsíros N, Koncsos P, Lőrincz H, Seres I, Katkó M, Szentpéteri A, Varga VE, Fülöp P, Paragh G, **Harangi M**. Paraoxonase-1 arylesterase activity is an independent predictor of myeloperoxidase levels in overweight patients with or without cardiovascular complications. *Clin Biochem.* 2016; 49(12):862-7.

Szentpéteri A, Zsíros N, Varga VE, Lőrincz H, Katkó M, Seres I, Fülöp P, Paragh G, **Harangi M**. Paraoxonase-1 and myeloperoxidase correlate with vascular biomarkers in newly diagnosed untreated hyperlipidemic patients. *VASA - Eur J Vasc Med.* 2017; 46(5), 370-376.

Harangi M, Szentpéteri A, Nádró B, Lőrincz H, Seres I, Páll D, Paragh G. HDL subfraction distribution and HDL function in untreated dyslipidemic patients. *Vessel Plus.* 2017; 1:166-73.

Harangi M, Seres I, Varga Z, Emri G, Szilvássy Z, Paragh G, Remenyik E. Atorvastatin effect on high-density lipoprotein-associated paraoxonase activity and oxidative DNA damage. *Eur J Clin Pharmacol.* 2004; 60(10):685-91.

Harangi M, Mirdamadi HZ, Seres I, Sztanek F, Molnár M, Kassai A, Derdák Z, Illyés L, Paragh G. Atorvastatin effect on the distribution of high-density lipoprotein subfractions and human paraoxonase activity. *Transl Res.* 2009; 153(4):190-8.

Harangi M, Seres I, Harangi J, Paragh G. Benefits and difficulties in measuring HDL subfractions and human paraoxonase-1 activity during statin treatment. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2009; 23(6):501-10.

Harangi M, Seres I, Balogh I, Köbling T, Harangi J, Varga J, Márk L, Paragh G. Effect of apolipoprotein E genotypes on the efficacy of ezetimibe monotherapy in patients with statin induced adverse effects. *Int J Clin Pharmacol Ther.* 2013; 51(9):746-52.

Zsíros N, Bodor M, Varga V, Berta E, Balogh I, Seres I, Paragh G, **Harangi M**. The c.-133A > G polymorphism in NPC1L1 gene influences the efficacy of ezetimibe

monotherapy on apolipoprotein A1 in hyperlipidemic patients. *Pharmazie*. 2014; 69(6):424-9.

Varga VE, Lőrincz H, Zsíros N, Fülöp P, Seres I, Paragh G, Balla J, **Harangi M**. Impact of selective LDL apheresis on serum chemerin levels in patients with hypercholesterolemia. *Lipids Health Dis*. 2016; 15(1):182.

Varga VE, Lőrincz H, Szentpéteri A, Juhász L, Seres I, Paragh G Jr, Balla J, Paragh G, **Harangi M**. Changes in serum afamin and vitamin E levels after selective LDL apheresis. *J Clin Apher*. 2018; 33(5):569-75.

9.3. Egyetemi doktori (PhD fokozat) megszerzése utáni in extenso közlemények

1. Paragh, G ; Seres, I ; Harangi, M ; Balogh, Z ; Illyes, L ; Boda, J ; Szilvassy, Z ; Kovacs, P. The effect of micronised fenofibrate on paraoxonase activity in patients with coronary heart disease. DIABETES & METABOLISM 29 : 6 p. 613-618 (2003)
2. Paragh, Gy ; Balogh, Z ; Harangi, M. Kardiovaszkuláris rizikóbecslés szerepe a háziorvosi gyakorlatban. HÁZIORVOS TOVÁBBKÉPZŐ SZEMLE 8 : 6 pp. 471-477. , 7 p. (2003)
3. Paragh, György ; Harangi, Mariann. A lipideltérések genetikai háttere METABOLIZMUS 4 pp. 246-250. , 5 p. (2003)
4. Harangi, M ; Seres, I ; Varga, Z ; Emri, G ; Szilvassy, Z ; Paragh, G ; Remenyik, E. Atorvastatin effect on high-density lipoprotein-associated paraoxonase activity and oxidative DNA damage. EUROPEAN JOURNAL OF CLINICAL PHARMACOLOGY 60 : 10 pp. 685-691. , 7 p. (2004)
5. Köbling, T ; Derdák, Z ; Seres, I ; Balogh, Z ; Harangi, M ; Katona, É ; Paragh, Gy. A fibrátok szerepe a szérumban paraoxonáz aktivitásában. METABOLIZMUS 2 pp. 113-119. , 7 p. (2004)
6. Paragh, G ; Torocsik, D ; Seres, I ; Harangi, M ; Illyes, L ; Balogh, Z ; Kovacs, P. Effect of short term treatment with simvastatin and atorvastatin on lipids and paraoxonase activity in patients with hyperlipoproteinaemia. CURRENT MEDICAL RESEARCH AND OPINION 20 : 8 p. 1321-1327 (2004)
7. Paragh, Gy ; Harangi, M. A fibrátok helye a 2-es típusú diabetes mellitus kezelésében. DIABETOLOGIA HUNGARICA 12 : 3 suppl pp. 48-55. , 8 p. (2004)
8. Paragh, Gy ; Harangi, M. Evidence based vizsgálatok a lipidológiában. METABOLIZMUS 2 : 1 pp. 2-7. , 6 p. (2004)
9. Szabó, Z ; Harangi, M ; Lőrincz, I ; Seres, I ; Katona, E ; Karányi, Zs ; Paragh, Gy. A hyperlipidaemia hatása a QT diszperzióra nem ischaemiás szívbetegekben. METABOLIZMUS 2 : 4 pp. 175-178. , 4 p. (2004)
10. Harangi, M ; Köbling, T ; Paragh, Gy. Reverz koleszterintranszport. METABOLIZMUS 3 pp. 56-60. , 5 p. (2005)
11. Harangi, M ; Seres, I ; Paragh, Gy. Lipidcsökkentők hatása a humán paraoxonáz-1 aktivitására. MAGYAR BELORVOSI ARCHIVUM 58 : 2 pp. 36-40. , 5 p. (2005)
12. Harangi, M ; Kaminski, WE ; Fleck, M ; Orso, E ; Zeher, M ; Kiss, E ; Szekanecz, Z ; Zilahi, E ; Marienhagen, J ; Aslanidis, C et al. Homozygosity for the 168His variant of the minor histocompatibility antigen HA-1 is associated with reduced risk of primary Sjogren's syndrome. EUROPEAN JOURNAL OF IMMUNOLOGY 35 : 1 pp. 305-317. , 13 p. (2005)
13. Harangi, Mariann ; Karádi, István ; Paragh, György. A gyulladás szerepe az atheroszklerózis kialakulásában. HÁZIORVOS TOVÁBBKÉPZŐ SZEMLE 10 : 9 pp. 784-791. , 8 p. (2005)

14. Paragh, Gy ; Harangi, M ; Balogh, Z. Milyen mértékű LDL-koleszterinszint-csökkentés szükséges az atheroszklerózis regressziójához? MEDICAL DIGEST - ORVOSTUDOMÁNYI VÁLOGATÁS 2 pp. 6-10. , 5 p. (2005)
15. Paragh, Gy ; Harangi, M A pravastatin szerepe a kardiovaszkuláris prevencióban. METABOLIZMUS 3 pp. 199-203. , 5 p. (2005)
16. Szabó, Z ; Harangi, M ; Lőrincz, I ; Seres, I ; Katona, E ; Karányi, Z ; Paragh, Gy Effect of hyperlipidemia on QT dispersion in patients without ischemic heart disease. CANADIAN JOURNAL OF CARDIOLOGY 21 : 10 pp. 847-850. , 4 p. (2005) Harangi, M ; Balogh, Z ; Paragh, Gy. A statinkezelés hatékonysága és biztonságos alkalmazhatósága. METABOLIZMUS 4 : 2 pp. 142-150. , 9 p. (2006)
17. Harangi, M ; Kobling, T ; Paragh, G. [The role of transmembrane lipidtransporter molecules in the atherosclerotic process]. ORVOSI HETILAP 147 : 6 pp. 251-257. , 7 p. (2006)
18. Harangi, M ; Mátyus, J ; Nagy, E ; Nagy, E ; Paragh, Gy ; Balla, J ; Oláh, A. A cyanosis ritka oka: sulphhaemoglobinaemia. LEGE ARTIS MEDICINAE 16 pp. 54-55. , 2 p. (2006)
19. Paragh, G ; Harangi, M. [Treatment of dyslipidemia in clinical practice]. ORVOSI HETILAP 147 : 9 pp. 389-394. , 6 p. (2006)
20. Paragh, G ; Seres, I ; Harangi, M ; Erdei, A ; Audikovszky, M ; Debreczeni, L ; Kovacsay, A ; Illyes, L ; Pados, G. . Ciprofibrate increases paraoxonase activity in patients with metabolic syndrome. BRITISH JOURNAL OF CLINICAL PHARMACOLOGY 61 : 6 pp. 694-701. , 8 p. (2006)
21. Paragh, Gy ; Harangi, M. Kardiometabolikus kockázat és a lipidanyagcsere-zavarok. METABOLIZMUS 4 : 2 pp. 132-136. , 5 p. (2006)
22. Paragh, Gy ; Harangi, M. A menopauzális hormonterápia cardiovascularis hatásai. LEGE ARTIS MEDICINAE 16 pp. 225-234. , 10 p. (2006)
23. Paragh, Gy ; Harangi, M ; Balogh, Z. A korszerű lipidcsökkentő kezelés klinikai gyakorlata 2006-ban. KARDIOLÓGUS 5 : 1 pp. 43-49. , 7 p. (2006)
24. Audikovszky, M ; Pados, G ; Seres, I ; Harangi, M ; Fulop, P ; Katona, E ; Illyes, L ; Winkler, G ; Katona, EM ; Paragh, G. Orlistat increases serum paraoxonase activity in obese patients. NUTRITION METABOLISM AND CARDIOVASCULAR DISEASES 17 : 4 pp. 268-273. , 6 p. (2007)
25. Harangi, M ; Paragh, Gy. A korai, intenzív statinkezelés hatása akut koronária szindrómában. METABOLIZMUS 5 : 3 pp. 184-191. , 8 p. (2007)
26. Harangi, M ; Sztanek, F ; Paragh, Gy. A sztatinok és a proteinuria. HYPERTONIA ÉS NEPHROLOGIA 11 : 5 pp. 237-243. , 7 p. (2007)

27. Harangi, M ; Mátyus, J ; Nagy, E ; Nagy, E ; Paragh, G ; Balla, J ; Oláh, A V. Identification of sulfhemoglobinemia after surgical polypectomy. CLINICAL TOXICOLOGY 45 : 2 pp. 189-192. , 4 p. (2007)
28. Paragh, Gy ; Sztanek, F ; Harangi, M. A lipidcsökkentő kezelés mai gyakorlata – fókuszban a vesebetegségek. METABOLIZMUS 5 : 4 pp. 201-205. , 5 p. (2007) 72.
29. P Szabó, R ; Varga, I ; if, Péter M ; Harangi, Mariann ; Barna, E ; Újhelyi, László ; Trinn, Cs ; Mátyus, János ; Kárpáti, I ; Balla, József. Dializált betegeink kardiovaszkuláris érintettségével (diagnosztika, terápia, gondozás) Esetbemutatás. HYPERTONIA ÉS NEPHROLOGIA 11 : S2 p. 39 (2007)
30. Harangi, M ; Paragh, Gy. Időskori lipid-abnormalitások kezelése a háziiorvosi gyakorlatban. MAGYAR CSALÁDORVOSOK LAPJA 1 pp. 13-21. , 9 p. (2008)
31. Harangi, M ; Seres, I ; Magyar, MT ; Csipo, I ; Sipka, S ; Valikovics, A ; Csiba, L ; Bereczki, D ; Paragh, G. Association between human paraoxonase 1 activity and intima-media thickness in subjects under 55 years of age with carotid artery disease. CEREBROVASCULAR DISEASES 25 : 1-2 pp. 122-128. , 7 p. (2008)
32. Koncsos, P ; Seres, I ; Jozsa, L ; Ilyes, I ; Gonczi, F ; Sztanek, F ; Harangi, M ; Paragh, GY. Effect of lifestyle changes in childhood obesity - changes in paraoxonase activity and adipokine levels. INTERNATIONAL JOURNAL OF OBESITY 32 pp. S123-S123. (2008)
33. Mirdamadi, HZ ; Sztanek, F ; Derdak, Z ; Seres, I ; Harangi, M ; Paragh, G. The human paraoxonase-1 phenotype modifies the effect of statins on paraoxonase activity and lipid parameters. BRITISH JOURNAL OF CLINICAL PHARMACOLOGY 66 : 3 pp. 366-374. , 9 p. (2008)
34. Paragh, G ; Harangi, M ; Márk, L. Új trendek a lipidológiában: a HDL-koleszterin szerepének felértékelődése [New trends in lipidology: the increasing role of HDL-cholesterol] ORVOSI HETILAP 149 : 30 pp. 1395-1404. , 10 p. (2008)
35. Paragh, Gy ; Harangi, M. Elhízás, mint kockázati tényező. METABOLIZMUS 6 : 4 pp. 229-233. , 5 p. (2008)
36. Paragh, Gy ; Harangi, M ; Márk, L. . Az egyes lipidparaméterek szerepe és jelentősége, különös tekintettel a HDL-emelés fontosságára HÁZIORVOS TOVÁBBKÉPZŐ SZEMLE 13 pp. A10-A16. (2008)
37. Paragh, Gy ; Harangi, M. Új evidence based lipidvizsgálatok. HÁZIORVOS TOVÁBBKÉPZŐ SZEMLE 13 pp. 159-164. , 6 p. (2008)
38. Paragh, Gy ; Sztanek, F ; Harangi, M. A statinok Janus-arca. DIABETOLOGIA HUNGARICA 16 : 1 pp. 35-41. , 7 p. (2008)
39. Harangi, M ; Szodoray, P ; Paragh, G. Atherosclerosis: a complex interplay of inflammatory processes. CLINICAL LIPIDOLOGY 4 : 2 pp. 167-187. , 21 p. (2009)

40. Harangi, M ; Mirdamadi, HZ ; Seres, I ; Sztanek, F ; Molnar, M ; Kassai, A ; Derdak, Z ; Illyes, L ; Paragh, G. Atorvastatin effect on the distribution of high-density lipoprotein subfractions and human paraoxonase activity. TRANSLATIONAL RESEARCH 153 : 4 pp. 190-198. , 9 p. (2009)
41. Harangi, M ; Seres, I ; Harangi, J ; Paragh, G. Benefits and difficulties in measuring HDL subfractions and human paraoxonase-1 activity during statin treatment. CARDIOVASCULAR DRUGS AND THERAPY 23 : 6 pp. 501-510. , 10 p. (2009)
42. Paragh, G ; Seres, I ; Harangi, M ; Pocsai, Z ; Asztalos, L ; Locsey, L ; Széles, G ; Kardos, L ; Varga, E ; Karpati, L et al. Discordance in human paraoxonase-1 gene between phenotypes and genotypes in chronic kidney disease. NEPHRON CLINICAL PRACTICE 113 : 1 pp. C46-C53. (2009)
43. Paragh, Gy ; Harangi, M. A JUPITER-vizsgálat összefoglalója. METABOLIZMUS 7 : 1 pp. 39-42. , 4 p. (2009)
44. Paragh, Gy ; Harangi, M ; Márk, L. Miben különböznek a statinok egymástól? A metabolizmus és a vízdékonyság jelentősége. METABOLIZMUS 7 : 1 pp. 20-25. , 6 p. (2009)
45. Varga, E ; Seres, I ; Harangi, M ; Sztanek, F ; Asztalos, L ; Locsey, L ; Borbas, B ; Szegedi, J ; Karpati, I ; Paragh, G. Serum cystatin C is a determinant of paraoxonase activity in hemodialyzed and renal transplanted patients. DISEASE MARKERS 26 : 3 pp. 141-148. , 8 p. (2009)
46. Harangi, M ; Balogh, I ; Harangi, J ; Paragh, G. A koleszterinfelszívódás hatékonyságának genetikai háttere. A Niemann-Pick C1-like-1 receptor és génvariációinak szerepe a lipidanyagcserében. ORVOSI HETILAP 151 : 34 pp. 1376-1383. , 8 p. (2010)
47. Koncsos, P ; Seres, I ; Harangi, M ; Illyes, I ; Jozsa, L ; Gonczi, F ; Bajnok, L ; Paragh, G. Human Paraoxonase-1 Activity in Childhood Obesity and Its Relation to Leptin and Adiponectin Levels. PEDIATRIC RESEARCH 67 : 3 pp. 309-313. , 5 p. (2010)
48. Paragh, Gy ; Harangi, M. A sztatinok antikancerogén hatása. KARDIOVASZKULÁRIS PREVENCIÓ ÉS REHABILITÁCIÓ 3 pp. 5-13. , 9 p. (2010)
49. Paragh, Gy ; Harangi, M. A gyulladásos és immunfolyamatok lehetséges szerepe a metabolikus szindróma kialakulásában és progressziójában. DIABETOLOGIA HUNGARICA 2 pp. 127-135. , 9 p. (2010)
50. Szanto, A ; Harangi, M ; Seres, I ; Paragh, G ; Zeher, M. Decreased human paraoxonase-1 activity in patients with Sjogren's syndrome..INTERNATIONAL IMMUNOLOGY 22 : 7 pp. 605-609. , 5 p. (2010)
51. Szodoray ; Papp, G ; Nakken, B ; Harangi, M ; Zeher, M. The molecular and clinical rationale of extracorporeal photochemotherapy in autoimmune diseases, malignancies and transplantation. AUTOIMMUNITY REVIEWS 9 : 6 pp. 459-464. Paper: 20044039 , 6 p. (2010)

52. Varga, O ; Harangi, M ; Olsson, IA ; Hansen, AK. Contribution of animal models to the understanding of the metabolic syndrome: a systematic overview. OBESITY REVIEWS 11 : 11 pp. 792-807. Paper: 19845867 , 16 p. (2010)
53. Harangi, M ; Kovacs, T ; Rakoczi, E ; Rejto, L ; Miko, L ; Toth, L ; Szucs, G ; Galuska, L ; Paragh, G. Malignancy or Inflammation? A Case Report of a Young Man with Fever of Unknown Origin. PATHOLOGY AND ONCOLOGY RESEARCH 17 : 2 pp. 409-413. , 5 p. (2011)
54. Koncsos, P ; Seres, I ; Harangi, M ; Pall, D ; Jozsa, L ; Bajnok, L ; Nagy, EV ; Paragh, G. Favorable effect of short-term lifestyle intervention on human paraoxonase-1 activity and adipokine levels in childhood obesity. JOURNAL OF THE AMERICAN COLLEGE OF NUTRITION 30 : 5 pp. 333-339. , 7 p. (2011)
55. Locsey, L ; Seres, I ; Sztanek, F ; Harangi, M ; Padra, J ; Asztalos, L ; Paragh, G SERUM HOMOCYSTEINE THIOLACTONASE AND PARAOXONASE ACTIVITY IN RENAL TRANSPLANTED PATIENTS. TRANSPLANT INTERNATIONAL 24 pp. 294-294. , 1 p. (2011)
56. Paragh, Gy ; Sztanek, F ; Harangi, M. A triglicerid metabolizmus. METABOLIZMUS 9 pp. 214-217. , 4 p. (2011)
57. Harangi, János ; Béke, Gabriella ; Harangi, Mariann ; Mótyán, János András. The digestable parent cyclodextrin. JOURNAL OF INCLUSION PHENOMENA AND MACROCYCLIC CHEMISTRY 73 : 1-4 pp. 335-339. , 5 p. (2012)
58. P, Szabó R ; Péter, M ; Varga, I ; Vajda, G ; Harangi, M ; Mátyus, J ; Balla, J. Gyógyszerkibocsátó stent alkalmazása arteria mesenterica superior in-stent restenosisában. LEGE ARTIS MEDICINAE 22 : 6-7 pp. 423-427. , 5 p. (2012)
59. Sztanek, F ; Seres, I ; Harangi, M ; Locsey, L ; Koncsos, P ; Paragh, G. Effect of nutritional status on human paraoxonase-1 activity in patients with chronic kidney disease. KIDNEY AND BLOOD PRESSURE RESEARCH 36 : 1 pp. 310-319. , 10 p. (2012)
60. Sztanek, F ; Seres, I ; Harangi, M ; Lo, csey L ; Padra, J ; Paragh, GJ ; Asztalos, L ; Paragh, G. Decreased paraoxonase 1 (PON1) lactonase activity in hemodialyzed and renal transplanted patients. A novel cardiovascular biomarker in end-stage renal disease. NEPHROLOGY DIALYSIS TRANSPLANTATION 27 : 7 pp. 2866-2872. , 7 p. (2012)
61. Varga, Eva ; Seres, Ildiko ; Harangi, Mariann ; Karpati, Istvan ; Koncsos, Peter ; Sztanek, Ferenc ; Paragh, Gyorgy. Low High-Density Lipoprotein Cholesterol Is Not Responsible for Decreased Paraoxonase Activity in Chronic Renal Failure. KIDNEY AND BLOOD PRESSURE RESEARCH 35 : 4 pp. 265-272. , 8 p. (2012)
62. Gaál, K ; Lorincz, H ; Seres, I ; Harangi, M ; Oláh, AV ; Paragh, G. Characterization of a novel high-density lipoprotein antioxidant capacity assay and its application to high-density lipoprotein fractions. CLINICAL BIOCHEMISTRY 46 : 9 pp. 825-827. , 3 p. (2013)

63. Harangi, Mariann ; Zsíros, Noémi ; Paragh, György. A myeloperoxidáz szerepe a szív-és érrendszeri betegségek kialakulásában. METABOLIZMUS 1 pp. 5-11. , 7 p. (2013)
64. Harangi, Mariann ; Seres, Ildikó ; Balogh, István ; Köbling, Tamás ; Harangi, János ; Varga, József ; Márk, László ; Paragh, György. Effect of Apolipoprotein E genotypes on the efficacy of ezetimibe monotherapy in patients with statin induced adverse effects. INTERNATIONAL JOURNAL OF CLINICAL PHARMACOLOGY AND THERAPEUTICS 51 : 9 pp. 746-752. , 7 p. (2013)
65. Harangi, Mariann ; Zsiros, Noemi ; Juhasz, Lilla ; Paragh, György. Statin okozta mellékhatások – tények és gének: Statin-induced adverse effects – facts and genes. ORVOSI HETILAP 154 : 3 pp. 83-92. , 10 p. (2013)
66. Locsey, L ; Seres, I ; Sztanek, F ; Harangi, M ; Padra, J ; Kovacs, D ; Fedor, R ; Asztalos, L ; Paragh, G. Relationship between serum paraoxonase and homocysteine thiolactonase activity, adipokines, and asymmetric dimethyl arginine concentrations in renal transplant patients. TRANSPLANTATION PROCEEDINGS 45 : 10 pp. 3685-3687. , 3 p. (2013)
67. Paragh, György ; Harangi, Mariann. A lipideltérések genetikai háttere. METABOLIZMUS 4 pp. 246-250. , 5 p. (2013)
68. Somodi, S ; Balajthy, A ; Szilágyi, O ; Pethoudoubleacute, Z ; Harangi, M ; Paragh, G ; Panyi, G ; Hajdu, P. Analysis of the K⁺ current in human CD4⁺ T lymphocytes in hypercholesterolemic state. CELLULAR IMMUNOLOGY 281 : 1 pp. 20-26. , 7 p. (2013)
69. Berta, Eszter ; Harangi, Mariann ; Zsíros, Noémi ; Nagy, Endre V ; Paragh, György ; Bodor, Miklós. A gyógyszerkölsönhatások és a kóros pajzsmirigyhormon-státusz vizsgálata sztatinnal kezelt hiperlipidémiás betegekben. MAGYAR BELORVOSI ARCHIVUM 67 pp. 406-411. , 6 p. (2014)
70. Berta, Eszter ; Harangi, Mariann ; Zsíros, Noémi ; Nagy, Endre V ; Paragh, György ; Bodor, Miklós. Effect of thyroid hormone status and concomitant medication on statin induced adverse effects in hyperlipidemic patients. PHARMAZIE 69 pp. 420-423. , 4 p. (2014)
71. Harangi, M ; Zsíros, N ; Balla, J ; Paragh, Gy. Tapasztalataink a szelektív LDL-aferezis kezeléssel. METABOLIZMUS 1 pp. 19-23. , 5 p. (2014)
72. Kapás, I ; Katkó, M ; Harangi, M ; Paragh, G ; Balogh, I ; Kóczi, Z ; Regelsberger, G ; Molnár, MJ ; Kovacs, GG. . Cerebrotendinous xanthomatosis with the c.379C>T (p.R127W) mutation in the CYP27A1 gene associated with premature age-associated limbic tauopathyNEUROPATHOLOGY AND APPLIED NEUROBIOLOGY 40 : 3 pp. 345-350. , 6 p. (2014)
73. Lorincz, H ; Katko, M ; Harangi, M ; Somodi, S ; Gaal, K ; Fulop, P ; Paragh, G ; Seres, I. Strong correlations between circulating chemerin levels and lipoprotein subfractions in nondiabetic obese and nonobese subjects. CLINICAL ENDOCRINOLOGY 81 : 3 pp. 370-377. , 8 p. (2014)

74. Paragh, György ; Seres, Ildikó ; Harangi, Mariann ; Fülöp, Péter. Dynamic interplay between metabolic syndrome and immunity. *ADVANCES IN EXPERIMENTAL MEDICINE AND BIOLOGY* 824 pp. 171-190. , 20 p. (2014)
75. Péter, Fülöp ; Ildikó, Seres ; Hajnalka, Lőrincz ; Mariann, Harangi ; Sándor, Somodi ; György, Paragh. Association of chemerin with oxidative stress, inflammation and classical adipokines in non-diabetic obese patients. *JOURNAL OF CELLULAR AND MOLECULAR MEDICINE* 18 : 7 pp. 1313-1320. , 8 p. (2014)
76. Varga, VE ; Katko, M ; Harangi, J ; Balogh, I ; Kapas, I ; Madar, L ; Seres, I ; Molnar, MJ ; Paragh, G ; Kovacs, GG et al. Egy ritka, veleszületett neurodegeneratív betegség: a cerebrotendinosus xanthomatosis laboratóriumi diagnosztikája. *ORVOSI HETILAP* 155 : 21 pp. 811-816. , 6 p. (2014)
77. Zsíros, N ; Bodor, M ; Varga, V ; Berta, E ; Balogh, I ; Seres, I ; Paragh, G ; Harangi, M . The c.-133A >G polymorphism in NPC1L1 gene influences the efficacy of ezetimibe monotherapy on apolipoprotein A1 in hyperlipidemic patients. *PHARMAZIE* 69 : 6 pp. 424-429. , 6 p. (2014)
78. Zsíros, Noémi ; Paragh, György ; Harangi, Mariann. Az emelkedett lipoprotein(a)-szint klinikai jelentősége és kezelési lehetőségei. *ORVOSI HETILAP* 155 : 16 pp. 607-614. , 8 p. (2014)
79. Zsíros, Noémi ; Juhász, Lilla ; Paragh, György ; Harangi, Mariann. Statin okozta mellékhatások kockázati tényezői hiperlipidémiás betegeinkben. *METABOLIZMUS* 12 : 3 pp. 178-182. , 5 p. (2014)
80. Lorincz, H ; Harangi, M ; Olah, AV ; Szabo, GP ; Fulop, P ; Somodi, S ; Paragh, G ; Seres, I. Altered lipid subfraction profile and impaired antioxidant defense of high-density lipoprotein in Smith-Lemli-Opitz syndrome. *PEDIATRIC RESEARCH* 77 : 5 pp. 703-709. , 7 p. (2015)
81. Márk, L ; Harangi, M ; Becker, D. Ateroszklerózis, instabil plakk, akut koronária szindróma. *CARDIOLOGIA HUNGARICA* 45 : 1 pp. 40-47. , 8 p. (2015)
82. Fülöp, Péter ; Harangi, Mariann ; Seres, Ildikó ; Paragh, György. Paraoxonase-1 and adipokines: Potential links between obesity and atherosclerosis. *CHEMICO-BIOLOGICAL INTERACTIONS* 259 pp. 388-393. , 6 p. (2016)
83. Gaal, K ; Tarr, T ; Lorincz, H ; Borbas, V ; Seres, I ; Harangi, M ; Fulop, P ; Paragh, G. High-density lipoprotein antioxidant capacity, subpopulation distribution and paraoxonase-1 activity in patients with systemic lupus erythematosus. *LIPIDS IN HEALTH AND DISEASE* 15 : 1 pp. 1-8. , 8 p. (2016)
84. Harangi, Mariann ; Zsíros, Noémi ; Paragh, György. Dyslipidaemiák kezelése: új lipidcsökkentő szerek. *METABOLIZMUS* 14 : 3 pp. 160-163. , 4 p. (2016)
85. Varga, Viktória Evelin ; Lőrincz, Hajnalka ; Zsíros, Noémi ; Fülöp, Péter ; Seres, Ildikó ; Paragh, György ; Balla, József ; Harangi, Mariann. Impact of selective LDL apheresis on serum chemerin levels in patients with hypercholesterolemia. *LIPIDS IN HEALTH AND DISEASE* 15 Paper: 182 , 7 p. (2016)

86. Zsiros, N ; Koncsos, P ; Lorincz, H ; Seres, I ; Katko, M ; Szentpeteri, A ; Varga, VE ; Fulop, P ; Paragh, G ; Harangi, M. Paraoxonase-1 arylesterase activity is an independent predictor of myeloperoxidase levels in overweight patients with or without cardiovascular complications. CLINICAL BIOCHEMISTRY 49 : 12 pp. 862-867. , 6 p. (2016)
87. Harangi, Mariann ; Szentpéteri, Anita ; Nádró, Bíborka ; Lőrincz, Hajnalka ; Seres, Ildikó ; Páll, Dénes ; Paragh, György. HDL subfraction distribution and HDL function in untreated dyslipidemic patients. VESSEL PLUS Epub ahead of print (2017) (2017)
88. Harangi, Mariann ; Juhász, Lilla ; Nádró, Bíborka ; Paragh, György. Az LDL aferezis helye a lipidcsökkentésben a PCSK9 gátlók bevezetését követően. METABOLIZMUS 15 : 2 pp. 79-84. , 6 p. (2017)
89. Harangi, Mariann ; Juhász, Lilla ; Nádró, Bíborka ; Balla, József ; Paragh, György. LDL apheresis or PCSK9 inhibition? Sometimes we have to combine them. VESSEL PLUS 1 pp. 91-95. , 5 p. (2017)
90. Paragh, György ; Harangi, Mariann ; Juhász, Imre. Familiáris hypercholesterinaemia tünetei, diagnosztikája, terápiás lehetőségei. METABOLIZMUS 15 : 2 pp. 75-78. , 4 p. (2017)
91. Paragh, György ; Juhász, Imre ; Harangi, Mariann. Lipidcsökkentő kezelés az evidenciák és ajánlások tükrében. METABOLIZMUS 15 : 3 pp. 143-149. , 7 p. (2017)
92. Szentpeteri, A ; Zsiros, N ; Varga, VE ; Lorincz, H ; Katko, M ; Seres, I ; Fulop, P ; Paragh, G ; Harangi, M. Paraoxonase-1 and myeloperoxidase correlate with vascular biomarkers in overweight patients with newly diagnosed untreated hyperlipidaemia. VASA: ZEITSCHRIFT FÜR GEFAESSKRANKHEITEN / JOURNAL OF VASCULAR DISEASES 46 : 5 pp. 370-376. , 7 p. (2017)
93. Zádori, Dénes ; Szpisjak, László ; Madar, László ; Varga, Viktória Evelin ; Csányi, Bernadett ; Bencsik, Krisztina ; Balogh, István ; Harangi, Mariann ; Kereszty, Éva ; Vécsei, László et al. Different phenotypes in identical twins with cerebrotendinous xanthomatosis: case series. NEUROLOGICAL SCIENCES 38 : 3 pp. 481-483. , 3 p. (2017)
94. Akinsolu, Folahanmi Tomiwa ; Balczár, Eszter ; Kovács, Nóra ; Gáll, Tibor ; Harangi, Mariann ; Varga, Orsolya. Developing a database for Rett syndrome research performed in the European Union: A resource for researchers and stakeholders. Child: Care, Health and Development 5 p. 10.1111/cch.12595 (2018)
95. Biborka, Nadro ; Lilla, Juhasz ; Anita, Szentpeteri ; Denes, Pall ; Gyorgy, Paragh ; Mariann, Harangi. The role of apolipoprotein M and sphingosine 1-phosphate axis in the prevention of atherosclerosis. ORVOSI HETILAP 159 : 5 pp. 168-175. , 8 p. (2018)
96. Imre, Csige ; Dóra, Ujvárosy ; Zoltán, Szabó ; István, Lőrincz ; György, Paragh ; Mariann, Harangi ; Sándor, Somodi. The Impact of Obesity on the Cardiovascular System. JOURNAL OF DIABETES RESEARCH 2018 Paper: 3407306 , 12 p. (2018)

97. Laszlo, Mark ; Mariann, Harangi ; Gyorgy, Paragh . . A residuais kockázat útvesszői: a maradék lipid és gyulladásos kockázat csökkentése az atherosclerosis prevenciójában. ORVOSI HETILAP 159 : 4 pp. 124-130. , 7 p. (2018)
98. Paragh, Gy ; Harangi, M ; Karányi, Zs ; Daróczy, B ; Németh, Á ; Fülöp, P. Identifying patients with familial hypercholesterolemia using data mining methods in the Northern Great Plain region of Hungary. ATHEROSCLEROSIS 277 pp. 262-266. , 5 p. (2018)
99. Paragh, György ; Harangi, Mariann. A magyar lipid ajánlást befolyásoló legújabb klinikai tanulmányok. METABOLIZMUS 16 : 1 pp. 6-11. , 6 p. (2018)
100. Somodi, Sándor ; Seres, Ildikó ; Lőrincz, Hajnalka ; Harangi, Mariann ; Fülöp, Péter ; Paragh, György. Plasminogen Activator Inhibitor-1 Level Correlates with Lipoprotein Subfractions in Obese Nondiabetic Subjects. INTERNATIONAL JOURNAL OF ENDOCRINOLOGY 2018 Paper: 9596054 , 9 p. (2018)
101. Szentpéteri, Anita ; Lőrincz, Hajnalka ; Somodi, Sándor ; Varga, Viktória Evelin ; Paragh, György Jr ; Seres, Ildikó ; Paragh, György ; Harangi, Mariann. Serum obestatin level strongly correlates with lipoprotein subfractions in non-diabetic obese patients. LIPIDS IN HEALTH AND DISEASE 17 Paper: 39 , 8 p. (2018)
102. Sztanek, Ferenc ; Zöld, Eszter ; Harangi, Mariann ; Kempler, Péter ; Paragh, György. A diabeteses neuropathia osztályozása és diagnosztikája a legújabb nemzetközi ajánlások alapján. MAGYAR BELORVOSI ARCHIVUM 71 : 4 pp. 193-200. , 8 p. (2018)
103. Varga, Viktória E. ; Lőrincz, Hajnalka ; Szentpéteri, Anita ; Juhász, Lilla ; Seres, Ildikó ; Paragh, György Jr ; Balla, József ; Paragh, György ; Harangi, Mariann. Changes in serum afamin and vitamin E levels after selective LDL apheresis. JOURNAL OF CLINICAL APHERESIS 33 : 5 pp. 569-575. , 7 p. (2018)
104. Berta, Eszter ; Lengyel, Inez ; Halmi, Sándor ; Zrínyi, Miklós ; Erdei, Annamária ; Harangi, Mariann ; Páll, Dénes ; Nagy, Endre V. ; Bodor, Miklós. Hypertension in Thyroid Disorders. FRONTIERS IN ENDOCRINOLOGY 10 Paper: 482 (2019)
105. Nádró, Bíborka ; Zsíros, Noémi ; Paragh, György ; Harangi, Mariann. Kardiovaszkuláris kockázati tényezők posztmenopauzában. METABOLIZMUS 17 : 2 pp. 105-110. , 6 p. (2019)
106. Nádró, Bíborka ; Sztanek, Ferenc ; Lőrincz, Hajnalka ; Páll, Dénes ; Paragh, György ; Harangi, Mariann. A szénhidrát-anyagcsere és a gyulladásos folyamatok jellemzésére szolgáló új marker, a szérumpogranulin diagnosztikai és prognosztikai szerepéről. ORVOSI HETILAP 160 : 25 pp. 973-979. , 7 p. (2019)
107. Sztanek, Ferenc ; Jebelovszki, Éva ; Gaszner, Balázs ; Zrínyi, Miklós ; Páll, Dénes ; Kempler, Péter ; Harangi, Mariann. A diabeteses kardialis autonóm neuropathia diagnosztikája. ORVOSI HETILAP 160 : 35 pp. 1366-1375. , 10 p. (2019)

108. Zsíros, Noémi ; Kovács, Beáta ; Paragh, György ; Balla, József ; Harangi, Mariann. Successful plasmapheresis treatment of severe hypertriglyceridemia during late pregnancy. VESSEL PLUS 3 Paper: 6 , 6 p. (2019)

9.3.Egyetemi doktori (PhD fokozat) megszerzése előtti in extenso közlemények

1. Balogh, Z ; Paragh, Gy ; Seres, I ; Harangi, M ; Kovács, P ; Kakuk, Gy. Gemfibrozil hatása 2-es típusú cukorbetegség szérumbetoxonáz aktivitására. MAGYAR BELORVOSI ARCHIVUM 3 pp. 347-352. , 6 p. (1999)
2. Balogh, Zoltán ; Paragh, György ; Seres, Ildikó ; Harangi, Mariann ; Kovács, Péter ; Kakuk, György. Gemfibrozil hatása a 2-es típusú cukorbetegség szérumbetoxonáz aktivitására. MAGYAR BELORVOSI ARCHIVUM 52 : 4 pp. 347-352. , 6 p. (1999)
3. Paragh, G ; Seres, I ; Balogh, Z ; Harangi, M ; Katona, E ; Fülöp, P ; Kakuk, G. A szimvasztatin hatása a szérumbetoxonáz aktivitására. MAGYAR BELORVOSI ARCHIVUM 3 pp. 255-258. , 4 p. (1999)
4. Paragh, G ; Balogh, Z ; Seres, I ; Harangi, M ; Boda, J. Gemfibrozil hatása a HDL-hez kötött betoxonáz aktivitására és a lipoprotein szintek alakulására. HÁZIORVOS TOVÁBBKÉPZŐ SZEMLE 4 pp. 73-77. , 5 p. (1999)
5. Paragh, G ; Asztalos, L ; Seres, I ; Balogh, Z ; Lőcsey, L ; Kárpáti, I ; Mátyus, J ; Katona, E ; Harangi, M ; Kakuk, G. Serum betoxonase activity changes in uraemic and kidney-transplanted patients. NEPHRON (1964-2002) 83 pp. 126-131. , 6 p. (1999)
6. Balogh, Z ; Bacsó, J ; Brúgós, B ; Seres, I ; Harangi, M ; Paragh, Gy. A haj szeléntartalmának vizsgálata hypercholesterinaemiás betegekben. MAGYAR BELORVOSI ARCHIVUM 53 : 3 pp. 209-213. , 5 p. (2000)
7. Harangi, Mariann ; Remenyik, Éva ; Seres, Ildikó ; Varga, Zsuzsa ; Balogh, Zoltán ; Kakuk, György ; Paragh, György. Oxidatív stressz hatására kialakuló DNS-károsodás meghatározása comet assay-vel hyperlipidaemiás betegekben. MAGYAR BELORVOSI ARCHIVUM 53 : 6 pp. 391-396. , 6 p. (2000)
8. Paragh, Gy ; Seres, I ; Balogh, Z ; Harangi, M ; Illyés, L ; Boda, J ; Varga, Zs ; Kovács, P. A mikronizált fenofibrát hatása a szérumbetoxonáz aktivitására coronaria-betegségben szenvedő hiperlipidémiás egyénekben. MAGYAR BELORVOSI ARCHIVUM 53 : 5 pp. 338-342. , 5 p. (2000)
9. Paragh, Gy ; Seres, I ; Balogh, Z ; Lőcsey, L ; Asztalos, L ; Harangi, M ; Kárpáti, I ; Mátyus, J ; Kakuk, Gy. A serumbetoxonáz-aktivitás változása vesetranszplantáció után. HYPERTONIA ÉS NEPHROLOGIA 4 pp. 31-36. , 6 p. (2000)
10. Paragh, Gy ; Balogh, Z ; Kovács, P ; Wórum, F ; Harangi, M ; Czuriga, I ; Illyés, L ; Kakuk, Gy. A szekunder prevenció szerepe korai myocardialis infarktust követően. CARDIOLOGIA HUNGARICA 1 pp. 31-35. , 5 p. (2000)
11. Paragh, György ; Balogh, Zoltán ; Seres, Ildikó ; Harangi, Mariann ; Boda, Judit ; Kovács, Péter. Effect of gemfibrozil on HDL-Associated serum betoxonase activity and lipoprotein profile in patients with hyperlipidaemia. CLINICAL DRUG INVESTIGATION 19 : 4 pp. 277-282. , 6 p. (2000)

12. Paragh, György ; Balogh, Zoltán ; Balogh, Zoltán ; Kovács, Péter ; Kovács, Péter ; Wórum, Ferenc ; Harangi, Mariann ; Czuriga, István ; Illyés, László ; Kakuk, György. A szekunder prevenció szerepe a korai myocardialis infarctust követően.. *CARDIOLOGIA HUNGARICA* 1 pp. 17-21. , 5 p. (2000)
13. Seres, I ; Varga, Zs ; Balogh, Z ; Harangi, M ; Fülöp, P ; Kakuk, Gy ; Paragh, Gy. Hypercholesterinaemiás betegek szérumának paraoxonáz aktivitása és E vitamin szintje. *MAGYAR BELORVOSI ARCHIVUM* 53 : 2 pp. 115-117. , 3 p. (2000)
14. Audikovszky, M ; Pados, G ; Seres, I ; Harangi, M ; Fulop, P ; Katona, E ; Winkler, G ; Paragh, G. Obes betegek lipidprofiljának és paraoxonaz aktivitásának változása orlistat kezelést követően. *ORVOSI HETILAP* 142 : 50 pp. 2779-2783. , 5 p. (2001)
15. Balogh, Z ; Fulop, P ; Seres, I ; Harangi, M ; Katona, E ; Kovacs, P ; Kosztaczky, B ; Paragh, G. Effects of simvastatin on serum paraoxonase activity. *CLINICAL DRUG INVESTIGATION* 21 : 7 pp. 505-510. , 6 p. (2001)
16. Balogh, Z ; Seres, I ; Harangi, M ; Kovacs, P ; Kakuk, G ; Paragh, G. Gemfibrozil increases paraoxonase activity in type 2 diabetic patients. A new hypothesis of the beneficial action of fibrates? *DIABETES & METABOLISM* 27 : 5 p. 604-610 (2001)
17. Harangi, Mariann ; Katona, Evelin ; Remenyik, Éva ; Paragh, György. Sclerosis tuberosa. *HYPERTONIA ÉS NEPHROLOGIA* 5 : 3 pp. 144-149. , 6 p. (2001)
18. Paragh, G ; Harangi, M [The role of HDL in the prevention of cardiovascular events]. *ORVOSI HETILAP* 142 : 3 pp. 121-126. , 6 p. (2001)
19. Paragh, Gy ; Harangi, M ; Balogh, Z Multimetabolikus syndroma és hypertonia *GRANUM: ORVOSI SZAKMAI FOLYÓIRAT* 1 pp. 26-28. , 3 p. (2001)
20. Paragh, Gy ; Harangi, M ; Balogh, Z. Diabetes mellitus és paraoxonáz. *DIABETOLOGIA HUNGARICA* 9 : 1 pp. 13-17. , 5 p. (2001)
21. Paragh, Gy ; Harangi, M. A lipidek szerepe az atherogenesisben a primer, szekunder és regressziós tanulmányok alapján. *CSALÁDORVOSI FÓRUM* 2 : 2 pp. 43-51. , 9 p. (2001)
22. Harangi, M ; Aslanidis, C ; Paragh, G ; Schmitz, G. High-speed detection of the two common paraoxonase polymorphisms Leu(55)-> Met and Gln(192)-> Arg by real-time fluorescence PCR and melting curves. *CLINICAL CHEMISTRY AND LABORATORY MEDICINE* 40 : 4 pp. 337-340. , 4 p. (2002)
23. Harangi, M ; Remenyik, E ; Seres, I ; Varga, Z ; Katona, E ; Paragh, G. Determination of DNA damage induced by oxidative stress in hyperlipidemic patients. *MUTATION RESEARCH-FUNDAMENTAL AND MOLECULAR MECHANISMS OF MUTAGENESIS* 513 : 1-2 pp. 17-25. , 9 p. (2002)

24. Harangi, Mariann ; Seres, Ildikó ; Varga, Zsuzsa ; Remenyik, Éva ; Emri, Gabriella ; Paragh, György. Az atorvastatin-kezelés hatása a paraoxonáz aktivitásra és az oxidatív DNS-károsodásra. MAGYAR BELORVOSI ARCHIVUM 55 : 2 pp. 83-88. , 6 p. (2002)
25. Paragh, Gy ; Seres, I ; Harangi, M ; Fülöp, P ; Katona, E ; Winkler, G ; Audikovszky, M ; Pados, Gy. Changes in the lipid profile and paraoxonase activity of obese patients after orlistat treatment. ACTA PHYSIOLOGICA HUNGARICA 89 : 1-3 p. 299 (2002)
26. Paragh, Gy ; Harangi, M Az atherosclerosis keletkezése, jelentősége, valamint rizikófaktorai. HÁZIORVOS TOVÁBBKÉPZŐ SZEMLE 7 : 4 pp. 260-265. , 6 p. (2002)
27. Paragh, Gy ; Harangi, M. A leghatékonyabb statin. KARDIOLÓGUS 3 pp. 61-68. , 8 p. (2002)
28. Paragh, Gy ; Seres, I ; Harangi, M ; Törőcsik, D ; Katona, É ; Illyés, L ; Szilvássy, Z ; Kovács, P. Az atorvastatin és simvastatin lipidcsökkentő hatásának összehasonlítása. MAGYAR BELORVOSI ARCHIVUM 55 : 3 pp. 121-127. , 7 p. (2002)

9.4. Nemzetközi kooperációban megjelent közlemények

1. Harangi M, Kaminski WE, Fleck M, Orsó E, Zeher M, Kiss E, Szekanecz Z, Zilahi E, Marienhagen J, Aslanidis C, Paragh G, Bolstad AI, Jonsson R, Schmitz G. Homozygosity for the 168His variant of the minor histocompatibility antigen HA-1 is associated with reduced risk of primary Sjögren's syndrome. Eur J Immunol. 2005 Jan;35(1):305-17.
2. Harangi M, Aslanidis C, Paragh G, Schmitz G. High-speed detection of the two common paraoxonase polymorphisms Leu55-->Met and Gln192-->Arg by real-time fluorescence PCR and melting curves. Clin Chem Lab Med. 2002 Apr;40(4):337-40.

9.5. Könyvfejezetek

Paragh, Gy ; Harangi, M. Időskori lipidabnormalitások. In: Imre, S (szerk.) A klinikai gerontológia alapjai. Budapest, Magyarország : Medicina Könyvkiadó Zrt., (2007) pp. 67-83. , 17 p.

Paragh, Gy ; Harangi, M ; Seres, I. The role of human serum paraoxonase in diseases with enhanced atherogenesis. Free radicals and diseases. In: Góth, L (szerk.) Reactive Oxygen Species and Diseases. Budapest, Magyarország : Research Signpost, (2007) pp. 113-135. , 23 p.

Paragh, G ; Harangi, M ; Seres, I. Effect of lipid lowering medications on PON1. In: Mackness, B; Mackness, M; Aviram, M; Paragh, G (szerk.) The Paraoxonases: Their role in disease development and xenobiotic metabolism Dordrecht, Hollandia : Springer, (2008) pp. 251-266. , 16 p.

Seres, I ; Bajnok, L ; Harangi, M ; Sztanek, F ; Koncsos, P ; Paragh, G. Alteration of PON1 Activity in Adult and Childhood Obesity and Its Relation to Adipokine Levels. In: Reddy, ST (szerk.) PARAOXONASES IN INFLAMMATION, INFECTION, AND TOXICOLOGY New York (NY), Amerikai Egyesült Államok : Humana Press, (2010) pp. 129-142. , 14 p.

10. Scientometria

Harangi Mariann tudományos és oktatási közleményeinek összefoglalása MTA V. Orvostudományi Osztály (2020.09.09)				
Tudományos és oktatási közlemények	Szám		Hivatkozások ¹	
	Összesen	Részletezve	Független	Összesen
I. Folyóiratcikk ²	127	---	---	---
szakcikk, nemzetközi folyóiratban, idegen nyelvű	---	47	717	826
szakcikk, hazai idegen nyelvű	---	0	0	0
szakcikk, magyar nyelvű	---	62	7	8
szakcikk, sokszerzős, érdemi szerzőként ³	---	0	0	0
összefoglaló közlemény	---	15	94	100
rövid közlemény	---	3	13	17
II. Könyv	0	---	---	---
a) Szakkönyv, kézikönyv, tankönyv szerzőként	0	---	---	---
idegen nyelvű	---	0	0	0
magyar nyelvű	---	0	0	0
aa) Felsőoktatási tankönyv	---	0	0	0
b) Szakkönyv, kézikönyv, konferenciakötet, tankönyv szerkesztőként	0	---	---	---
idegen nyelvű	---	0	---	---
magyar nyelvű	---	0	---	---
bb) Felsőoktatási tankönyv	---	0	---	---
III. Könyvrészlet	4	---	---	---
idegen nyelvű	---	2	22	22
magyar nyelvű	---	1	0	0
cc) Felsőoktatási tankönyvfejezet	---	1	0	0
IV. Konferenciaközlemény ⁴	2	---	8	10
Oktatási közlemények összesen (II.aa,bb-III.cc)	---	1	0	0
Tudományos közlemények összesen (I-IV)	---	132	861	983
Tudományos és oktatási közlemények összesen (I-IV.)	133	---	861	983
V. További tudományos művek	11	---	---	---
További tudományos művek, ide értve a nem teljes folyóiratcikket és a nem ismert lektoráltságú folyóiratokban megjelent teljes folyóiratcikket is	---	11	0	0
Szerkesztőségi levelezés, hozzászólások, válaszok	---	0	0	0
Olthalmak (szabadalmak)	---	0	0	0
VI. Hivatkozott absztraktok ⁵	1	---	1	1
Összes hivatkozás ¹	---	---	862	984
Hirsch index ⁶	21	---	---	---
g index ⁶	29	---	---	---
Speciális tudományometriai adatok	Száma	Összes hivatkozás		
Első szerzős teljes folyóiratcikkek száma ²	31	200		
Utolsó szerzős teljes folyóiratcikkek száma ²	36	24		
A tudományos fokozat (PhD) elnyerése utáni (2002) teljes tudományos folyóiratcikkek száma	105	758		
Az utolsó 10 év (2010 - 2020) tudományos, teljes, lektorált tudományos folyóiratcikkeinek száma	62	391		
A legmagasabb hivatkozottságú közlemény hivatkozásainak száma (az összes hivatkozás százalékában)	70	7,11%		
Hivatkozások száma, amelyek nem szerepelnek a WoS/Scopus rendszerben	---	29		
Jelentés, guideline	0	0		
Csoportos (multicentrikus) közleményben kollaborációs közreműködő ⁷	0	0		

11. Irodalomjegyzék

1. Collaborators GCoD. Global, regional, and national age-sex specific mortality for 264 causes of death, 1980-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet* 2017;390(10100):1151-1210
2. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation* 2002;105(9):1135-1143
3. Goldstein JL, Hazzard WR, Schrott HG, *et al.* Hyperlipidemia in coronary heart disease. I. Lipid levels in 500 survivors of myocardial infarction. *J Clin Invest* 1973;52(7):1533-1543
4. Tornvall P, Båvenholm P, Landou C, *et al.* Relation of plasma levels and composition of apolipoprotein B-containing lipoproteins to angiographically defined coronary artery disease in young patients with myocardial infarction. *Circulation* 1993;88(5 Pt 1):2180-2189
5. Boekholdt SM, Arsenault BJ, Mora S, *et al.* Association of LDL cholesterol, non-HDL cholesterol, and apolipoprotein B levels with risk of cardiovascular events among patients treated with statins: a meta-analysis. *JAMA* 2012;307(12):1302-1309
6. Gordon T, Castelli WP, Hjortland MC, *et al.* High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease. The Framingham Study. *Am J Med* 1977;62(5):707-714
7. Otvos JD, Jeyarajah EJ, Cromwell WC. Measurement issues related to lipoprotein heterogeneity. *Am J Cardiol* 2002;90(8A):22i-29i
8. Rosenson RS, Otvos JD, Freedman DS. Relations of lipoprotein subclass levels and low-density lipoprotein size to progression of coronary artery disease in the Pravastatin Limitation of Atherosclerosis in the Coronary Arteries (PLAC-I) trial. *Am J Cardiol* 2002;90(2):89-94
9. Hachem SB, Mooradian AD. Familial dyslipidaemias: an overview of genetics, pathophysiology and management. *Drugs* 2006;66(15):1949-1969
10. Vodnala D, Rubenfire M, Brook RD. Secondary causes of dyslipidemia. *Am J Cardiol* 2012;110(6):823-825
11. Acharjee S, Boden WE, Hartigan PM, *et al.* Low levels of high-density lipoprotein cholesterol and increased risk of cardiovascular events in stable ischemic heart disease patients: A post-hoc analysis from the COURAGE Trial (Clinical Outcomes Utilizing Revascularization and Aggressive Drug Evaluation). *J Am Coll Cardiol* 2013;62(20):1826-1833
12. Gordon DJ, Probstfield JL, Garrison RJ, *et al.* High-density lipoprotein cholesterol and cardiovascular disease. Four prospective American studies. *Circulation* 1989;79(1):8-15
13. Boden WE, Probstfield JL, Anderson T, *et al.* Niacin in patients with low HDL cholesterol levels receiving intensive statin therapy. *N Engl J Med* 2011;365(24):2255-2267
14. Nicholls SJ, Tuzcu EM, Brennan DM, *et al.* Cholesteryl ester transfer protein inhibition, high-density lipoprotein raising, and progression of coronary atherosclerosis: insights from

ILLUSTRATE (Investigation of Lipid Level Management Using Coronary Ultrasound to Assess Reduction of Atherosclerosis by CETP Inhibition and HDL Elevation). *Circulation* 2008;118(24):2506-2514

15. Schwartz GG, Olsson AG, Abt M, *et al.* Effects of dalcetrapib in patients with a recent acute coronary syndrome. *N Engl J Med* 2012;367(22):2089-2099
16. Tonkin A, Hunt D, Voysey M, *et al.* Effects of fenofibrate on cardiovascular events in patients with diabetes, with and without prior cardiovascular disease: The Fenofibrate Intervention and Event Lowering in Diabetes (FIELD) study. *Am Heart J* 2012;163(3):508-514
17. Bowman L, Hopewell JC, Chen F, *et al.* Effects of Anacetrapib in Patients with Atherosclerotic Vascular Disease. *N Engl J Med* 2017;377(13):1217-1227
18. Arsenault BJ, Després JP. HDL cholesterol is not HDL--don't judge the book by its cover. *Nat Rev Cardiol* 2012;9(10):557-558
19. MAGIS C, MACHEBOEUF M. [Not Available]. *Bull Soc Chim Biol (Paris)* 1945;27:302-309
20. Kontush A, Lindahl M, Lhomme M, *et al.* Structure of HDL: particle subclasses and molecular components. *Handb Exp Pharmacol* 2015;224:3-51
21. Wiesner P, Leidl K, Boettcher A, *et al.* Lipid profiling of FPLC-separated lipoprotein fractions by electrospray ionization tandem mass spectrometry. *J Lipid Res* 2009;50(3):574-585
22. Shah AS, Tan L, Long JL, *et al.* Proteomic diversity of high density lipoproteins: our emerging understanding of its importance in lipid transport and beyond. *J Lipid Res* 2013;54(10):2575-2585
23. Fisher EA, Feig JE, Hewing B, *et al.* High-density lipoprotein function, dysfunction, and reverse cholesterol transport. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2012;32(12):2813-2820
24. Sasahara T, Nestel P, Fidge N, *et al.* Cholesterol transport between cells and high density lipoprotein subfractions from obese and lean subjects. *J Lipid Res* 1998;39(3):544-554
25. Hill SA, McQueen MJ. Reverse cholesterol transport--a review of the process and its clinical implications. *Clin Biochem* 1997;30(7):517-525
26. Connelly MA, Klein SM, Azhar S, *et al.* Comparison of class B scavenger receptors, CD36 and scavenger receptor BI (SR-BI), shows that both receptors mediate high density lipoprotein-cholesteryl ester selective uptake but SR-BI exhibits a unique enhancement of cholesteryl ester uptake. *J Biol Chem* 1999;274(1):41-47
27. Annema W, Tietge UJ. Regulation of reverse cholesterol transport - a comprehensive appraisal of available animal studies. *Nutr Metab (Lond)* 2012;9(1):25

28. Graversen JH, Castro G, Kandoussi A, *et al.* A pivotal role of the human kidney in catabolism of HDL protein components apolipoprotein A-I and A-IV but not of A-II. *Lipids* 2008;43(5):467-470
29. Blake GJ, Ridker PM. Novel clinical markers of vascular wall inflammation. *Circ Res* 2001;89(9):763-771
30. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2012;32(9):2045-2051
31. Mertens A, Holvoet P. Oxidized LDL and HDL: antagonists in atherothrombosis. *FASEB J* 2001;15(12):2073-2084
32. Hartley A, Haskard D, Khamis R. Oxidized LDL and anti-oxidized LDL antibodies in atherosclerosis - Novel insights and future directions in diagnosis and therapy<sup/>. *Trends Cardiovasc Med* 2019;29(1):22-26
33. Mackness B, Beltran-Debon R, Aragonés G, *et al.* Human tissue distribution of paraoxonases 1 and 2 mRNA. *IUBMB Life* 2010;62(6):480-482
34. Primo-Parmo SL, Sorenson RC, Teiber J, *et al.* The human serum paraoxonase/arylesterase gene (PON1) is one member of a multigene family. *Genomics* 1996;33(3):498-507
35. Bergmeier C, Siekmeier R, Gross W. Distribution spectrum of paraoxonase activity in HDL fractions. *Clin Chem* 2004;50(12):2309-2315
36. Kelso GJ, Stuart WD, Richter RJ, *et al.* Apolipoprotein J is associated with paraoxonase in human plasma. *Biochemistry* 1994;33(3):832-839
37. ALDRIDGE WN. Serum esterases. II. An enzyme hydrolysing diethyl p-nitrophenyl phosphate (E600) and its identity with the A-esterase of mammalian sera. *Biochem J* 1953;53(1):117-124
38. Draganov DI, Teiber JF, Speelman A, *et al.* Human paraoxonases (PON1, PON2, and PON3) are lactonases with overlapping and distinct substrate specificities. *J Lipid Res* 2005;46(6):1239-1247
39. Bar-Rogovsky H, Huguenmatter A, Tawfik DS. The evolutionary origins of detoxifying enzymes: the mammalian serum paraoxonases (PONs) relate to bacterial homoserine lactonases. *J Biol Chem* 2013;288(33):23914-23927
40. La Du BN, Adkins S, Kuo CL, *et al.* Studies on human serum paraoxonase/arylesterase. *Chem Biol Interact* 1993;87(1-3):25-34
41. Ponce-Ruiz N, Murillo-González FE, Rojas-García AE, *et al.* Transcriptional regulation of human Paraoxonase 1 by nuclear receptors. *Chem Biol Interact* 2017;268:77-84

42. Furlong CE, Richter RJ, Seidel SL, *et al.* Role of genetic polymorphism of human plasma paraoxonase/arylesterase in hydrolysis of the insecticide metabolites chlorpyrifos oxon and paraoxon. *Am J Hum Genet* 1988;43(3):230-238
43. Eckerson HW, Romson J, Wyte C, *et al.* The human serum paraoxonase polymorphism: identification of phenotypes by their response to salts. *Am J Hum Genet* 1983;35(2):214-227
44. Aviram M, Rosenblat M, Bisgaier CL, *et al.* Paraoxonase inhibits high-density lipoprotein oxidation and preserves its functions. A possible peroxidative role for paraoxonase. *J Clin Invest* 1998;101(8):1581-1590
45. Rozenberg O, Rosenblat M, Coleman R, *et al.* Paraoxonase (PON1) deficiency is associated with increased macrophage oxidative stress: studies in PON1-knockout mice. *Free Radic Biol Med* 2003;34(6):774-784
46. Rosenblat M, Vaya J, Shih D, *et al.* Paraoxonase 1 (PON1) enhances HDL-mediated macrophage cholesterol efflux via the ABCA1 transporter in association with increased HDL binding to the cells: a possible role for lysophosphatidylcholine. *Atherosclerosis* 2005;179(1):69-77
47. Ahmed Z, Babaei S, Maguire GF, *et al.* Paraoxonase-1 reduces monocyte chemotaxis and adhesion to endothelial cells due to oxidation of palmitoyl, linoleoyl glycerophosphorylcholine. *Cardiovasc Res* 2003;57(1):225-231
48. Rosenblat M, Volkova N, Ward J, *et al.* Paraoxonase 1 (PON1) inhibits monocyte-to-macrophage differentiation. *Atherosclerosis* 2011;219(1):49-56
49. Shih DM, Gu L, Xia YR, *et al.* Mice lacking serum paraoxonase are susceptible to organophosphate toxicity and atherosclerosis. *Nature* 1998;394(6690):284-287
50. Shih DM, Xia YR, Wang XP, *et al.* Combined serum paraoxonase knockout/apolipoprotein E knockout mice exhibit increased lipoprotein oxidation and atherosclerosis. *J Biol Chem* 2000;275(23):17527-17535
51. Tward A, Xia YR, Wang XP, *et al.* Decreased atherosclerotic lesion formation in human serum paraoxonase transgenic mice. *Circulation* 2002;106(4):484-490
52. Seres I, Paragh G, Deschene E, *et al.* Study of factors influencing the decreased HDL associated PON1 activity with aging. *Exp Gerontol* 2004;39(1):59-66
53. James RW, Leviev I, Righetti A. Smoking is associated with reduced serum paraoxonase activity and concentration in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2000;101(19):2252-2257
54. Ferré N, Camps J, Fernández-Ballart J, *et al.* Regulation of serum paraoxonase activity by genetic, nutritional, and lifestyle factors in the general population. *Clin Chem* 2003;49(9):1491-1497

55. Paragh G, Seres I, Balogh Z, *et al.* The serum paraoxonase activity in patients with chronic renal failure and hyperlipidemia. *Nephron* 1998;80(2):166-170
56. Mackness MI, Harty D, Bhatnagar D, *et al.* Serum paraoxonase activity in familial hypercholesterolaemia and insulin-dependent diabetes mellitus. *Atherosclerosis* 1991;86(2-3):193-199
57. Abbott CA, Mackness MI, Kumar S, *et al.* Serum paraoxonase activity, concentration, and phenotype distribution in diabetes mellitus and its relationship to serum lipids and lipoproteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995;15(11):1812-1818
58. Ferretti G, Bacchetti T, Moroni C, *et al.* Paraoxonase activity in high-density lipoproteins: a comparison between healthy and obese females. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90(3):1728-1733
59. Bhattacharyya T, Nicholls SJ, Topol EJ, *et al.* Relationship of paraoxonase 1 (PON1) gene polymorphisms and functional activity with systemic oxidative stress and cardiovascular risk. *JAMA* 2008;299(11):1265-1276
60. Tang WH, Hartiala J, Fan Y, *et al.* Clinical and genetic association of serum paraoxonase and arylesterase activities with cardiovascular risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2012;32(11):2803-2812
61. Klebanoff SJ. Myeloperoxidase: contribution to the microbicidal activity of intact leukocytes. *Science* 1970;169(3950):1095-1097
62. Henderson JP, Byun J, Heinecke JW. Chlorination of nucleobases, RNA and DNA by myeloperoxidase: a pathway for cytotoxicity and mutagenesis by activated phagocytes. *Redox Rep* 1999;4(6):319-320
63. Henkel RR. Leukocytes and oxidative stress: dilemma for sperm function and male fertility. *Asian J Androl* 2011;13(1):43-52
64. Olive PL. The comet assay. An overview of techniques. *Methods Mol Biol* 2002;203:179-194
65. Singh NP, McCoy MT, Tice RR, *et al.* A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp Cell Res* 1988;175(1):184-191
66. Soran H, Schofield JD, Durrington PN. Antioxidant properties of HDL. *Front Pharmacol* 2015;6:222
67. Evans HM, Bishop KS. ON THE EXISTENCE OF A HITHERTO UNRECOGNIZED DIETARY FACTOR ESSENTIAL FOR REPRODUCTION. *Science* 1922;56(1458):650-651
68. Shahidi F, de Camargo AC. Tocopherols and Tocotrienols in Common and Emerging Dietary Sources: Occurrence, Applications, and Health Benefits. *Int J Mol Sci* 2016;17(10)

69. Niki E. Do free radicals play causal role in atherosclerosis? Low density lipoprotein oxidation and vitamin E revisited. *J Clin Biochem Nutr* 2011;48(1):3-7
70. Metzler KD, Fuchs TA, Nauseef WM, *et al.* Myeloperoxidase is required for neutrophil extracellular trap formation: implications for innate immunity. *Blood* 2011;117(3):953-959
71. Ismael FO, Proudfoot JM, Brown BE, *et al.* Comparative reactivity of the myeloperoxidase-derived oxidants HOCl and HOSCN with low-density lipoprotein (LDL): Implications for foam cell formation in atherosclerosis. *Arch Biochem Biophys* 2015;573:40-51
72. Bergt C, Oettl K, Keller W, *et al.* Reagent or myeloperoxidase-generated hypochlorite affects discrete regions in lipid-free and lipid-associated human apolipoprotein A-I. *Biochem J* 2000;346 Pt 2:345-354
73. Shao B, Oda MN, Bergt C, *et al.* Myeloperoxidase impairs ABCA1-dependent cholesterol efflux through methionine oxidation and site-specific tyrosine chlorination of apolipoprotein A-I. *J Biol Chem* 2006;281(14):9001-9004
74. Brevetti G, Schiano V, Laurenzano E, *et al.* Myeloperoxidase, but not C-reactive protein, predicts cardiovascular risk in peripheral arterial disease. *Eur Heart J* 2008;29(2):224-230
75. Zhang R, Brennan ML, Fu X, *et al.* Association between myeloperoxidase levels and risk of coronary artery disease. *JAMA* 2001;286(17):2136-2142
76. Huang Y, Wu Z, Riwanto M, *et al.* Myeloperoxidase, paraoxonase-1, and HDL form a functional ternary complex. *J Clin Invest* 2013;123(9):3815-3828
77. Haraguchi Y, Toh R, Hasokawa M, *et al.* Serum myeloperoxidase/paraoxonase 1 ratio as potential indicator of dysfunctional high-density lipoprotein and risk stratification in coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2014;234(2):288-294
78. Sini S, Deepa D, Harikrishnan S, *et al.* Evidence for an exclusive association of matrix metalloproteinase-9 with dysfunctional high-density lipoprotein: a novel finding. *Atherosclerosis* 2014;236(1):162-168
79. Okada Y, Gonoji Y, Naka K, *et al.* Matrix metalloproteinase 9 (92-kDa gelatinase/type IV collagenase) from HT 1080 human fibrosarcoma cells. Purification and activation of the precursor and enzymic properties. *J Biol Chem* 1992;267(30):21712-21719
80. Loftus IM, Naylor AR, Goodall S, *et al.* Increased matrix metalloproteinase-9 activity in unstable carotid plaques. A potential role in acute plaque disruption. *Stroke* 2000;31(1):40-47
81. Murphy G, McGuire MB, Russell RG, *et al.* Characterization of collagenase, other metalloproteinases and an inhibitor (TIMP) produced by human synovium and cartilage in culture. *Clin Sci (Lond)* 1981;61(6):711-716

82. Wang W, Song X, Chen Y, *et al.* The Long-Term Influence of Tissue Inhibitor of Matrix Metalloproteinase-1 in Patients with Mild to Moderate Coronary Artery Lesions in a Chinese Population: A 7-Year Follow-Up Study. *Cardiology* 2015;132(3):151-158
83. Inokubo Y, Hanada H, Ishizaka H, *et al.* Plasma levels of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 are increased in the coronary circulation in patients with acute coronary syndrome. *Am Heart J* 2001;141(2):211-217
84. Kelly D, Squire IB, Khan SQ, *et al.* Usefulness of plasma tissue inhibitors of metalloproteinases as markers of prognosis after acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2010;106(4):477-482
85. Cockerill GW, Rye KA, Gamble JR, *et al.* High-density lipoproteins inhibit cytokine-induced expression of endothelial cell adhesion molecules. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995;15(11):1987-1994
86. Muñoz-Vega M, Massó F, Páez A, *et al.* HDL-Mediated Lipid Influx to Endothelial Cells Contributes to Regulating Intercellular Adhesion Molecule (ICAM)-1 Expression and eNOS Phosphorylation. *Int J Mol Sci* 2018;19(11)
87. Drew BG, Fidge NH, Gallon-Beaumier G, *et al.* High-density lipoprotein and apolipoprotein AI increase endothelial NO synthase activity by protein association and multisite phosphorylation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101(18):6999-7004
88. Griffin JH, Fernández JA, Deguchi H. Plasma lipoproteins, hemostasis and thrombosis. *Thromb Haemost* 2001;86(1):386-394
89. He D, Zhao M, Wu C, *et al.* Apolipoprotein A-1 mimetic peptide 4F promotes endothelial repairing and compromises reendothelialization impaired by oxidized HDL through SR-B1. *Redox Biol* 2018;15:228-242
90. Gofman JW, Young W, Tandy R. Ischemic heart disease, atherosclerosis, and longevity. *Circulation* 1966;34(4):679-697
91. Blanche PJ, Gong EL, Forte TM, *et al.* Characterization of human high-density lipoproteins by gradient gel electrophoresis. *Biochim Biophys Acta* 1981;665(3):408-419
92. Caulfield MP, Li S, Lee G, *et al.* Direct determination of lipoprotein particle sizes and concentrations by ion mobility analysis. *Clin Chem* 2008;54(8):1307-1316
93. Rosenson RS, Brewer HB, Chapman MJ, *et al.* HDL measures, particle heterogeneity, proposed nomenclature, and relation to atherosclerotic cardiovascular events. *Clin Chem* 2011;57(3):392-410
94. Jerkovic L, Voegelé AF, Chwatal S, *et al.* Afamin is a novel human vitamin E-binding glycoprotein characterization and in vitro expression. *J Proteome Res* 2005;4(3):889-899

95. Pirillo A, Norata GD, Catapano AL. High-density lipoprotein subfractions--what the clinicians need to know. *Cardiology* 2013;124(2):116-125
96. Dutheil F, Gordon BA, Naughton G, *et al.* Cardiovascular risk of adipokines: a review. *J Int Med Res* 2018;46(6):2082-2095
97. Landecho MF, Tuero C, Valentí V, *et al.* Relevance of Leptin and Other Adipokines in Obesity-Associated Cardiovascular Risk. *Nutrients* 2019;11(11)
98. Csige I, Ujvárosy D, Szabó Z, *et al.* The Impact of Obesity on the Cardiovascular System. *J Diabetes Res* 2018;2018:3407306
99. Bajnok L, Seres I, Varga Z, *et al.* Relationship of endogenous hyperleptinemia to serum paraoxonase 1, cholesteryl ester transfer protein, and lecithin cholesterol acyltransferase in obese individuals. *Metabolism* 2007;56(11):1542-1549
100. Bajnok L, Csongradi E, Seres I, *et al.* Relationship of adiponectin to serum paraoxonase 1. *Atherosclerosis* 2008;197(1):363-367
101. Bajnok L, Seres I, Varga Z, *et al.* Relationship of serum resistin level to traits of metabolic syndrome and serum paraoxonase 1 activity in a population with a broad range of body mass index. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2008;116(10):592-599
102. Somodi S, Seres I, Lőrincz H, *et al.* Plasminogen Activator Inhibitor-1 Level Correlates with Lipoprotein Subfractions in Obese Nondiabetic Subjects. *Int J Endocrinol* 2018;2018:9596054
103. Lőrincz H, Katkó M, Harangi M, *et al.* Strong correlations between circulating chemerin levels and lipoprotein subfractions in nondiabetic obese and nonobese subjects. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2014;81(3):370-377
104. Nagpal S, Patel S, Jacobe H, *et al.* Tazarotene-induced gene 2 (TIG2), a novel retinoid-responsive gene in skin. *J Invest Dermatol* 1997;109(1):91-95
105. Bozaoglu K, Bolton K, McMillan J, *et al.* Chemerin is a novel adipokine associated with obesity and metabolic syndrome. *Endocrinology* 2007;148(10):4687-4694
106. MacDougald OA, Burant CF. The rapidly expanding family of adipokines. *Cell Metab* 2007;6(3):159-161
107. Maghsoudi Z, Kelishadi R, Hosseinzadeh-Attar MJ. The comparison of chemerin, adiponectin and lipid profile indices in obese and non-obese adolescents. *Diabetes Metab Syndr* 2016;10(2 Suppl 1):S43-46
108. Niklowitz P, Rothmel J, Lass N, *et al.* Link between chemerin, central obesity, and parameters of the Metabolic Syndrome: findings from a longitudinal study in obese children participating in a lifestyle intervention. *Int J Obes (Lond)* 2018;42(10):1743-1752

109. Yan Q, Zhang Y, Hong J, *et al.* The association of serum chemerin level with risk of coronary artery disease in Chinese adults. *Endocrine* 2012;41(2):281-288
110. Aksan G, İnci S, Nar G, *et al.* Association of serum chemerin levels with the severity of coronary artery disease in patients with metabolic syndrome. *Int J Clin Exp Med* 2014;7(12):5461-5468
111. Sato K, Yoshizawa H, Seki T, *et al.* Chemerin-9, a potent agonist of chemerin receptor (ChemR23), prevents atherogenesis. *Clin Sci (Lond)* 2019;133(16):1779-1796
112. Goldstein JL, Brown MS. Regulation of the mevalonate pathway. *Nature* 1990;343(6257):425-430
113. Levy E, Spahis S, Sinnett D, *et al.* Intestinal cholesterol transport proteins: an update and beyond. *Curr Opin Lipidol* 2007;18(3):310-318
114. Bosner MS, Lange LG, Stenson WF, *et al.* Percent cholesterol absorption in normal women and men quantified with dual stable isotopic tracers and negative ion mass spectrometry. *J Lipid Res* 1999;40(2):302-308
115. Wang DQ. Regulation of intestinal cholesterol absorption. *Annu Rev Physiol* 2007;69:221-248
116. Mach F, Baigent C, Catapano AL, *et al.* 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk. *Eur Heart J* 2019
117. Catapano AL, Graham I, De Backer G, *et al.* 2016 ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias. *Eur Heart J* 2016;37(39):2999-3058
118. Endo A. The discovery and development of HMG-CoA reductase inhibitors. *J Lipid Res* 1992;33(11):1569-1582
119. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Lancet* 1994;344(8934):1383-1389
120. Downs JR, Clearfield M, Weis S, *et al.* Primary prevention of acute coronary events with lovastatin in men and women with average cholesterol levels: results of AFCAPS/TexCAPS. Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study. *JAMA* 1998;279(20):1615-1622
121. Group HPSC. MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20,536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2002;360(9326):7-22
122. Cordle A, Koenigsnecht-Talboo J, Wilkinson B, *et al.* Mechanisms of statin-mediated inhibition of small G-protein function. *J Biol Chem* 2005;280(40):34202-34209
123. Chen W, Pendyala S, Natarajan V, *et al.* Endothelial cell barrier protection by simvastatin: GTPase regulation and NADPH oxidase inhibition. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2008;295(4):L575-583

124. Jacob RF, Walter MF, Self-Medlin Y, *et al.* Atorvastatin active metabolite inhibits oxidative modification of small dense low-density lipoprotein. *J Cardiovasc Pharmacol* 2013;62(2):160-166
125. Ridker PM, MacFadyen J, Libby P, *et al.* Relation of baseline high-sensitivity C-reactive protein level to cardiovascular outcomes with rosuvastatin in the Justification for Use of statins in Prevention: an Intervention Trial Evaluating Rosuvastatin (JUPITER). *Am J Cardiol* 2010;106(2):204-209
126. Bedi O, Dhawan V, Sharma PL, *et al.* Pleiotropic effects of statins: new therapeutic targets in drug design. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2016;389(7):695-712
127. Pedersen TR. Pleiotropic effects of statins: evidence against benefits beyond LDL-cholesterol lowering. *Am J Cardiovasc Drugs* 2010;10 Suppl 1:10-17
128. Oesterle A, Laufs U, Liao JK. Pleiotropic Effects of Statins on the Cardiovascular System. *Circ Res* 2017;120(1):229-243
129. Davies JP, Levy B, Ioannou YA. Evidence for a Niemann-pick C (NPC) gene family: identification and characterization of NPC1L1. *Genomics* 2000;65(2):137-145
130. Jia L, Betters JL, Yu L. Niemann-pick C1-like 1 (NPC1L1) protein in intestinal and hepatic cholesterol transport. *Annu Rev Physiol* 2011;73:239-259
131. Harangi M, Balogh I, Harangi J, *et al.* [Genetic background of the efficacy of cholesterol absorption. The role of Niemann-Pick C1-like 1 receptor and its genetic variations in lipid metabolism]. *Orv Hetil* 2010;151(34):1376-1383
132. Carstea ED, Morris JA, Coleman KG, *et al.* Niemann-Pick C1 disease gene: homology to mediators of cholesterol homeostasis. *Science* 1997;277(5323):228-231
133. Altmann SW, Davis HR, Zhu LJ, *et al.* Niemann-Pick C1 Like 1 protein is critical for intestinal cholesterol absorption. *Science* 2004;303(5661):1201-1204
134. Ge L, Wang J, Qi W, *et al.* The cholesterol absorption inhibitor ezetimibe acts by blocking the sterol-induced internalization of NPC1L1. *Cell Metab* 2008;7(6):508-519
135. Yu L. The structure and function of Niemann-Pick C1-like 1 protein. *Curr Opin Lipidol* 2008;19(3):263-269
136. Kawase A, Araki Y, Ueda Y, *et al.* Impact of a high-cholesterol diet on expression levels of Niemann-Pick C1-like 1 and intestinal transporters in rats and mice. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* 2016;41(4):457-463
137. Zhou L, Yang H, Okoro EU, *et al.* Up-regulation of cholesterol absorption is a mechanism for cholecystokinin-induced hypercholesterolemia. *J Biol Chem* 2014;289(19):12989-12999

138. Ravid Z, Bendayan M, Delvin E, *et al.* Modulation of intestinal cholesterol absorption by high glucose levels: impact on cholesterol transporters, regulatory enzymes, and transcription factors. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008;295(5):G873-885
139. Clader JW. The discovery of ezetimibe: a view from outside the receptor. *J Med Chem* 2004;47(1):1-9
140. Garcia-Calvo M, Lisnock J, Bull HG, *et al.* The target of ezetimibe is Niemann-Pick C1-Like 1 (NPC1L1). *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102(23):8132-8137
141. Davidson MH, McGarry T, Bettis R, *et al.* Ezetimibe coadministered with simvastatin in patients with primary hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol* 2002;40(12):2125-2134
142. Ballantyne CM, Houri J, Notarbartolo A, *et al.* Effect of ezetimibe coadministered with atorvastatin in 628 patients with primary hypercholesterolemia: a prospective, randomized, double-blind trial. *Circulation* 2003;107(19):2409-2415
143. Cannon CP, Blazing MA, Giugliano RP, *et al.* Ezetimibe Added to Statin Therapy after Acute Coronary Syndromes. *N Engl J Med* 2015;372(25):2387-2397
144. Baigent C, Landray MJ, Reith C, *et al.* The effects of lowering LDL cholesterol with simvastatin plus ezetimibe in patients with chronic kidney disease (Study of Heart and Renal Protection): a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2011;377(9784):2181-2192
145. Tsujita K, Sugiyama S, Sumida H, *et al.* Impact of Dual Lipid-Lowering Strategy With Ezetimibe and Atorvastatin on Coronary Plaque Regression in Patients With Percutaneous Coronary Intervention: The Multicenter Randomized Controlled PRECISE-IVUS Trial. *J Am Coll Cardiol* 2015;66(5):495-507
146. Sternberg Z, Chichelli T, Sternberg D, *et al.* Quantitative and qualitative pleiotropic differences between Simvastatin single and Vytorin combination therapy in hypercholesterolemic subjects. *Atherosclerosis* 2013;231(2):411-420
147. Muñoz-Pacheco P, Ortega-Hernández A, Miana M, *et al.* Ezetimibe inhibits PMA-induced monocyte/macrophage differentiation by altering microRNA expression: a novel anti-atherosclerotic mechanism. *Pharmacol Res* 2012;66(6):536-543
148. Qin L, Yang YB, Yang YX, *et al.* Inhibition of smooth muscle cell proliferation by ezetimibe via the cyclin D1-MAPK pathway. *J Pharmacol Sci* 2014;125(3):283-291
149. Schwartz J, Padmanabhan A, Aqui N, *et al.* Guidelines on the Use of Therapeutic Apheresis in Clinical Practice-Evidence-Based Approach from the Writing Committee of the American Society for Apheresis: The Seventh Special Issue. *J Clin Apher* 2016;31(3):149-162
150. Bambauer R, Bambauer C, Lehmann B, *et al.* LDL-apheresis: technical and clinical aspects. *ScientificWorldJournal* 2012;2012:314283

151. Bosch T, Gahr S, Belschner U, *et al.* Direct adsorption of low-density lipoprotein by DALI-LDL-apheresis: results of a prospective long-term multicenter follow-up covering 12,291 sessions. *Ther Apher Dial* 2006;10(3):210-218
152. Dittrich-Riediger J, Schatz U, Hohenstein B, *et al.* Adverse events of lipoprotein apheresis and immunoadsorption at the Apheresis Center at the University Hospital Dresden. *Atheroscler Suppl* 2015;18:45-52
153. Weisgraber KH. Apolipoprotein E: structure-function relationships. *Adv Protein Chem* 1994;45:249-302
154. Fernandez CG, Hamby ME, McReynolds ML, *et al.* The Role of APOE4 in Disrupting the Homeostatic Functions of Astrocytes and Microglia in Aging and Alzheimer's Disease. *Front Aging Neurosci* 2019;11:14
155. Beisiegel U, Weber W, Ihrke G, *et al.* The LDL-receptor-related protein, LRP, is an apolipoprotein E-binding protein. *Nature* 1989;341(6238):162-164
156. Davignon J, Gregg RE, Sing CF. Apolipoprotein E polymorphism and atherosclerosis. *Arteriosclerosis* 1988;8(1):1-21
157. Dallongeville J, Roy M, Leboeuf N, *et al.* Apolipoprotein E polymorphism association with lipoprotein profile in endogenous hypertriglyceridemia and familial hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb* 1991;11(2):272-278
158. Wu K, Bowman R, Welch AA, *et al.* Apolipoprotein E polymorphisms, dietary fat and fibre, and serum lipids: the EPIC Norfolk study. *Eur Heart J* 2007;28(23):2930-2936
159. Sing CF, Davignon J. Role of the apolipoprotein E polymorphism in determining normal plasma lipid and lipoprotein variation. *Am J Hum Genet* 1985;37(2):268-285
160. Anoop S, Misra A, Meena K, *et al.* Apolipoprotein E polymorphism in cerebrovascular & coronary heart diseases. *Indian J Med Res* 2010;132:363-378
161. Krauss RM, Mangravite LM, Smith JD, *et al.* Variation in the 3-hydroxyl-3-methylglutaryl coenzyme A reductase gene is associated with racial differences in low-density lipoprotein cholesterol response to simvastatin treatment. *Circulation* 2008;117(12):1537-1544
162. Voora D, Shah SH, Reed CR, *et al.* Pharmacogenetic predictors of statin-mediated low-density lipoprotein cholesterol reduction and dose response. *Circ Cardiovasc Genet* 2008;1(2):100-106
163. Thompson JF, Hyde CL, Wood LS, *et al.* Comprehensive whole-genome and candidate gene analysis for response to statin therapy in the Treating to New Targets (TNT) cohort. *Circ Cardiovasc Genet* 2009;2(2):173-181
164. Mega JL, Morrow DA, Brown A, *et al.* Identification of genetic variants associated with response to statin therapy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009;29(9):1310-1315

165. Mark L, Dani G, Fazekas O, *et al.* Effects of ezetimibe on lipids and lipoproteins in patients with hypercholesterolemia and different apolipoprotein E genotypes. *Curr Med Res Opin* 2007;23(7):1541-1548
166. Lauridsen BK, Stender S, Frikke-Schmidt R, *et al.* Genetic variation in the cholesterol transporter NPC1L1, ischaemic vascular disease, and gallstone disease. *Eur Heart J* 2015;36(25):1601-1608
167. Ference BA, Penumetcha R. Reply: Genetic Variation in NPC1L1 and Risk of Gallstone Disease. *J Am Coll Cardiol* 2015;66(9):1086-1088
168. Cohen JC, Pertsemlidis A, Fahmi S, *et al.* Multiple rare variants in NPC1L1 associated with reduced sterol absorption and plasma low-density lipoprotein levels. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006;103(6):1810-1815
169. Huff MW, Pollex RL, Hegele RA. NPC1L1: evolution from pharmacological target to physiological sterol transporter. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006;26(11):2433-2438
170. Zhao HL, Houweling AH, Vanstone CA, *et al.* Genetic variation in ABC G5/G8 and NPC1L1 impact cholesterol response to plant sterols in hypercholesterolemic men. *Lipids* 2008;43(12):1155-1164
171. Martín B, Solanas-Barca M, García-Otín AL, *et al.* An NPC1L1 gene promoter variant is associated with autosomal dominant hypercholesterolemia. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2010;20(4):236-242
172. Fülöp P, Seres I, Lőrincz H, *et al.* Association of chemerin with oxidative stress, inflammation and classical adipokines in non-diabetic obese patients. *J Cell Mol Med* 2014;18(7):1313-1320
173. Smolen A, Eckerson HW, Gan KN, *et al.* Characteristics of the genetically determined allozymic forms of human serum paraoxonase/arylesterase. *Drug Metab Dispos* 1991;19(1):107-112
174. Dihazi H, Koziolok MJ, Söllner T, *et al.* Protein adsorption during LDL-apheresis: proteomic analysis. *Nephrol Dial Transplant* 2008;23(9):2925-2935
175. Zerbinati C, Galli F, Regolanti R, *et al.* Gas chromatography-mass spectrometry microanalysis of alpha- and gamma-tocopherol in plasma and whole blood. *Clin Chim Acta* 2015;446:156-162
176. MRC European Carotid Surgery Trial: interim results for symptomatic patients with severe (70-99%) or with mild (0-29%) carotid stenosis. European Carotid Surgery Trialists' Collaborative Group. *Lancet* 1991;337(8752):1235-1243

177. Magyar MT, Szikszai Z, Balla J, *et al.* Early-onset carotid atherosclerosis is associated with increased intima-media thickness and elevated serum levels of inflammatory markers. *Stroke* 2003;34(1):58-63
178. Howard G, Sharrett AR, Heiss G, *et al.* Carotid artery intimal-medial thickness distribution in general populations as evaluated by B-mode ultrasound. ARIC Investigators. *Stroke* 1993;24(9):1297-1304
179. Bots ML. Carotid intima-media thickness as a surrogate marker for cardiovascular disease in intervention studies. *Curr Med Res Opin* 2006;22(11):2181-2190
180. Magyar MT, Szikszai Z, Kertész Z, *et al.* Calcium distribution in the vessel wall and intima-media thickness of the human carotid arteries. *Ultrasound Med Biol* 2007;33(8):1171-1178
181. Tibaut M, Caprnda M, Kubatka P, *et al.* Markers of Atherosclerosis: Part 2 - Genetic and Imaging Markers. *Heart Lung Circ* 2019;28(5):678-689
182. La Du BN, Eckerson HW. The polymorphic paraoxonase/arylesterase isozymes of human serum. *Fed Proc* 1984;43(8):2338-2341
183. Campo S, Sardo MA, Trimarchi G, *et al.* The paraoxonase promoter polymorphism (-107)T>C is not associated with carotid intima-media thickness in Sicilian hypercholesterolemic patients. *Clin Biochem* 2004;37(5):388-394
184. Rozek LS, Hatsukami TS, Richter RJ, *et al.* The correlation of paraoxonase (PON1) activity with lipid and lipoprotein levels differs with vascular disease status. *J Lipid Res* 2005;46(9):1888-1895
185. Kiortsis DN, Tsouli S, Lourida ES, *et al.* Lack of association between carotid intima-media thickness and PAF-acetylhydrolase mass and activity in patients with primary hyperlipidemia. *Angiology* 2005;56(4):451-458
186. Markus H, Kapozsta Z, Ditrich R, *et al.* Increased common carotid intima-media thickness in UK African Caribbeans and its relation to chronic inflammation and vascular candidate gene polymorphisms. *Stroke* 2001;32(11):2465-2471
187. Roest M, Jansen AC, Barendrecht A, *et al.* Variation at the paraoxonase gene locus contributes to carotid arterial wall thickness in subjects with familial hypercholesterolemia. *Clin Biochem* 2005;38(2):123-127
188. Karvonen J, Kauma H, Päivänsalo M, *et al.* Paraoxonase-1 gene Leu-Met55 and Gln-Arg192 polymorphisms are not associated with carotid artery atherosclerosis in a population-based cohort. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2004;11(6):511-512
189. Van Himbergen T, Roest M, De Waart F, *et al.* Paraoxonase genotype, LDL-oxidation and carotid atherosclerosis in male life-long smokers. *Free Radic Res* 2004;38(6):553-560

190. Dessì M, Gnasso A, Motti C, *et al.* Influence of the human paraoxonase polymorphism (PON1 192) on the carotid-wall thickening in a healthy population. *Coron Artery Dis* 1999;10(8):595-599
191. Fortunato G, Rubba P, Panico S, *et al.* A paraoxonase gene polymorphism, PON 1 (55), as an independent risk factor for increased carotid intima-media thickness in middle-aged women. *Atherosclerosis* 2003;167(1):141-148
192. Srinivasan SR, Li S, Chen W, *et al.* Q192R polymorphism of the paraoxonase 1 gene and its association with serum lipoprotein variables and carotid artery intima-media thickness in young adults from a biracial community. The Bogalusa Heart Study. *Atherosclerosis* 2004;177(1):167-174
193. Leus FR, Wittekoek ME, Prins J, *et al.* Paraoxonase gene polymorphisms are associated with carotid arterial wall thickness in subjects with familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 2000;149(2):371-377
194. Malin R, Loimaala A, Nenonen A, *et al.* Relationship between high-density lipoprotein paraoxonase gene M/L55 polymorphism and carotid atherosclerosis differs in smoking and nonsmoking men. *Metabolism* 2001;50(9):1095-1101
195. Gnasso A, Motti C, Irace C, *et al.* The Arg allele in position 192 of PON1 is associated with carotid atherosclerosis in subjects with elevated HDLs. *Atherosclerosis* 2002;164(2):289-295
196. Jarvik GP, Rozek LS, Brophy VH, *et al.* Paraoxonase (PON1) phenotype is a better predictor of vascular disease than is PON1(192) or PON1(55) genotype. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20(11):2441-2447
197. Roest M, Rodenburg J, Wiegman A, *et al.* Paraoxonase genotype and carotid intima-media thickness in children with familial hypercholesterolemia. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2006;13(3):464-466
198. Jornayvaz FR, Brulhart-Meynet MC, James RW. Myeloperoxidase and paraoxonase-1 in type 2 diabetic patients. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2009;19(9):613-619
199. Yunoki K, Naruko T, Inaba M, *et al.* Gender-specific correlation between plasma myeloperoxidase levels and serum high-density lipoprotein-associated paraoxonase-1 levels in patients with stable and unstable coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2013;231(2):308-314
200. Arsenault BJ, Barter P, DeMicco DA, *et al.* Prediction of cardiovascular events in statin-treated stable coronary patients of the treating to new targets randomized controlled trial by lipid and non-lipid biomarkers. *PLoS One* 2014;9(12):e114519

201. Krysiak R, Zmuda W, Okopien B. The effect of ezetimibe, administered alone or in combination with simvastatin, on lymphocyte cytokine release in patients with elevated cholesterol levels. *J Intern Med* 2012;271(1):32-42
202. Tamaki N, Ueno H, Morinaga Y, *et al.* Ezetimibe ameliorates atherosclerotic and inflammatory markers, atherogenic lipid profiles, insulin sensitivity, and liver dysfunction in Japanese patients with hypercholesterolemia. *J Atheroscler Thromb* 2012;19(6):532-538
203. Kaneider NC, Leger AJ, Kuliopulos A. Therapeutic targeting of molecules involved in leukocyte-endothelial cell interactions. *FEBS J* 2006;273(19):4416-4424
204. Mazor R, Shurtz-Swirski R, Farah R, *et al.* Primed polymorphonuclear leukocytes constitute a possible link between inflammation and oxidative stress in hyperlipidemic patients. *Atherosclerosis* 2008;197(2):937-943
205. von Leitner EC, Klinker A, Atzler D, *et al.* Pathogenic cycle between the endogenous nitric oxide synthase inhibitor asymmetrical dimethylarginine and the leukocyte-derived hemoprotein myeloperoxidase. *Circulation* 2011;124(24):2735-2745
206. Hafiane A, Genest J. High density lipoproteins: Measurement techniques and potential biomarkers of cardiovascular risk. *BBA Clin* 2015;3:175-188
207. Li JJ, Zhang Y, Li S, *et al.* Large HDL Subfraction But Not HDL-C Is Closely Linked With Risk Factors, Coronary Severity and Outcomes in a Cohort of Nontreated Patients With Stable Coronary Artery Disease: A Prospective Observational Study. *Medicine (Baltimore)* 2016;95(4):e2600
208. Mackness B, Turkie W, Mackness M. Paraoxonase-1 (PON1) promoter region polymorphisms, serum PON1 status and coronary heart disease. *Arch Med Sci* 2013;9(1):8-13
209. Hernández-Díaz Y, Tovilla-Zárate CA, Juárez-Rojop IE, *et al.* Effects of paraoxonase 1 gene polymorphisms on heart diseases: Systematic review and meta-analysis of 64 case-control studies. *Medicine (Baltimore)* 2016;95(44):e5298
210. Mason RP. Molecular basis of differences among statins and a comparison with antioxidant vitamins. *Am J Cardiol* 2006;98(11A):34P-41P
211. Navab M, Ananthramiah GM, Reddy ST, *et al.* The oxidation hypothesis of atherogenesis: the role of oxidized phospholipids and HDL. *J Lipid Res* 2004;45(6):993-1007
212. Vaca CE, Wilhelm J, Harms-Ringdahl M. Interaction of lipid peroxidation products with DNA. A review. *Mutat Res* 1988;195(2):137-149
213. Parthasarathy S, Barnett J. Phospholipase A2 activity of low density lipoprotein: evidence for an intrinsic phospholipase A2 activity of apoprotein B-100. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990;87(24):9741-9745

214. Harangi M, Remenyik E E, Seres I, *et al.* Determination of DNA damage induced by oxidative stress in hyperlipidemic patients. *Mutat Res* 2002;513(1-2):17-25
215. Guerin M, Lassel TS, Le Goff W, *et al.* Action of atorvastatin in combined hyperlipidemia : preferential reduction of cholesteryl ester transfer from HDL to VLDL1 particles. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20(1):189-197
216. Nosedà G, Darioli R, Keller U, *et al.* [Evaluating the efficacy and tolerance of atorvastatin in hyperlipidemia in general practice (SWITCH Study)]. *Schweiz Med Wochenschr* 2000;130(23):889-895
217. Schrott HG, Knapp H, Davila M, *et al.* Effect of atorvastatin on blood lipid levels in the first 2 weeks of treatment: a randomized, placebo-controlled study. *Am Heart J* 2000;140(2):249-252
218. Zhu Q, McMaster J, Mymin D, *et al.* Effects of atorvastatin treatment on the oxidatively modified low density lipoprotein in hyperlipidemic patients. *Mol Cell Biochem* 2000;207(1-2):9-17
219. Wierzbicki AS, Lumb PJ, Chik G, *et al.* Comparison of therapy with simvastatin 80 mg and atorvastatin 80 mg in patients with familial hypercholesterolaemia. *Int J Clin Pract* 1999;53(8):609-611
220. Shishehbor MH, Brennan ML, Aviles RJ, *et al.* Statins promote potent systemic antioxidant effects through specific inflammatory pathways. *Circulation* 2003;108(4):426-431
221. Tomás M, Sentí M, García-Faria F, *et al.* Effect of simvastatin therapy on paraoxonase activity and related lipoproteins in familial hypercholesterolemic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20(9):2113-2119
222. Aviram M, Rosenblat M, Bisgaier CL, *et al.* Atorvastatin and gemfibrozil metabolites, but not the parent drugs, are potent antioxidants against lipoprotein oxidation. *Atherosclerosis* 1998;138(2):271-280
223. Bonneau C, Couderc R, Tissot M, *et al.* Effects of human low-density lipoproteins on superoxide production by formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine activated polymorphonuclear leukocytes. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1997;35(2):73-80
224. Paragh G, Kovács E, Seres I, *et al.* Altered signal pathway in granulocytes from patients with hypercholesterolemia. *J Lipid Res* 1999;40(9):1728-1733
225. Wagner AH, Köhler T, Rückschloss U, *et al.* Improvement of nitric oxide-dependent vasodilatation by HMG-CoA reductase inhibitors through attenuation of endothelial superoxide anion formation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20(1):61-69

226. Raslová K, Dobiášová M, Nagyová A, *et al.* Ciprofibrate treatment in patients with atherogenic lipoprotein phenotype: effects on HDL quality, LDL susceptibility to oxidation and DNA damage. *Eur J Clin Pharmacol* 1998;54(9-10):697-699
227. Imaeda A, Tanigawa T, Aoki T, *et al.* Antioxidative effects of fluvastatin and its metabolites against oxidative DNA damage in mammalian cultured cells. *Free Radic Res* 2001;35(6):789-801
228. Stampfer MJ, Sacks FM, Salvini S, *et al.* A prospective study of cholesterol, apolipoproteins, and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med* 1991;325(6):373-381
229. Musliner TA, Krauss RM. Lipoprotein subspecies and risk of coronary disease. *Clin Chem* 1988;34(8B):B78-83
230. Broyles FE, Walden CE, Hunninghake DB, *et al.* Effect of fluvastatin on intermediate density lipoprotein (remnants) and other lipoprotein levels in hypercholesterolemia. *Am J Cardiol* 1995;76(2):129A-135A
231. Mölgaard J, Wärjerstam-Elf S, Olsson AG. Efficacy and safety of simvastatin for high-risk hypercholesterolemia. *Am J Cardiol* 1999;83(7):1043-1048
232. Brousseau ME, Schaefer EJ, Wolfe ML, *et al.* Effects of an inhibitor of cholesteryl ester transfer protein on HDL cholesterol. *N Engl J Med* 2004;350(15):1505-1515
233. Asztalos BF, Horvath KV, McNamara JR, *et al.* Effects of atorvastatin on the HDL subpopulation profile of coronary heart disease patients. *J Lipid Res* 2002;43(10):1701-1707
234. Schaefer EJ, McNamara JR, Tayler T, *et al.* Effects of atorvastatin on fasting and postprandial lipoprotein subclasses in coronary heart disease patients versus control subjects. *Am J Cardiol* 2002;90(7):689-696
235. Ai M, Otokoza S, Asztalos BF, *et al.* Effects of maximal doses of atorvastatin versus rosuvastatin on small dense low-density lipoprotein cholesterol levels. *Am J Cardiol* 2008;101(3):315-318
236. O'Keefe JH, Captain BK, Jones PG, *et al.* Atorvastatin reduces remnant lipoproteins and small, dense low-density lipoproteins regardless of the baseline lipid pattern. *Prev Cardiol* 2004;7(4):154-160
237. Collet X, Tall AR, Serajuddin H, *et al.* Remodeling of HDL by CETP in vivo and by CETP and hepatic lipase in vitro results in enhanced uptake of HDL CE by cells expressing scavenger receptor B-I. *J Lipid Res* 1999;40(7):1185-1193
238. Shimoji E, Zhang B, Fan P, *et al.* Inhibition of cholesteryl ester transfer protein increases serum apolipoprotein (apo) A-I levels by increasing the synthesis of apo A-I in rabbits. *Atherosclerosis* 2004;172(2):247-257

239. Kassai A, Illyés L, Mirdamadi HZ, *et al.* The effect of atorvastatin therapy on lecithin:cholesterol acyltransferase, cholesteryl ester transfer protein and the antioxidant paraoxonase. *Clin Biochem* 2007;40(1-2):1-5
240. Lagrost L, Athias A, Herbeth B, *et al.* Opposite effects of cholesteryl ester transfer protein and phospholipid transfer protein on the size distribution of plasma high density lipoproteins. Physiological relevance in alcoholic patients. *J Biol Chem* 1996;271(32):19058-19065
241. Huesca-Gómez C, Carreón-Torres E, Nepomuceno-Mejía T, *et al.* Contribution of cholesteryl ester transfer protein and lecithin:cholesterol acyltransferase to HDL size distribution. *Endocr Res* 2004;30(3):403-415
242. Himbergen TM, van Tits LJ, Voorbij HA, *et al.* The effect of statin therapy on plasma high-density lipoprotein cholesterol levels is modified by paraoxonase-1 in patients with familial hypercholesterolaemia. *J Intern Med* 2005;258(5):442-449
243. Moren X, Deakin S, Liu ML, *et al.* HDL subfraction distribution of paraoxonase-1 and its relevance to enzyme activity and resistance to oxidative stress. *J Lipid Res* 2008;49(6):1246-1253
244. Phan BA, Dayspring TD, Toth PP. Ezetimibe therapy: mechanism of action and clinical update. *Vasc Health Risk Manag* 2012;8:415-427
245. Pandor A, Ara RM, Tumor I, *et al.* Ezetimibe monotherapy for cholesterol lowering in 2,722 people: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Intern Med* 2009;265(5):568-580
246. Kesäniemi YA, Ehnholm C, Miettinen TA. Intestinal cholesterol absorption efficiency in man is related to apolipoprotein E phenotype. *J Clin Invest* 1987;80(2):578-581
247. Tammi A, Rönnekaa T, Rask-Nissilä L, *et al.* Apolipoprotein E phenotype regulates cholesterol absorption in healthy 13-month-old children--The STRIP Study. *Pediatr Res* 2001;50(6):688-691
248. Mahley RW, Rall SC. Apolipoprotein E: far more than a lipid transport protein. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2000;1:507-537
249. Pearson T, Ballantyne C, Sisk C, *et al.* Comparison of effects of ezetimibe/simvastatin versus simvastatin versus atorvastatin in reducing C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels. *Am J Cardiol* 2007;99(12):1706-1713
250. Nagy B, Karádi I, Fintor L, *et al.* Apolipoprotein E gene polymorphism frequencies in a sample of healthy Hungarians. *Clin Chim Acta* 1999;282(1-2):147-150
251. Paragh G, Balla P, Katona E, *et al.* Serum paraoxonase activity changes in patients with Alzheimer's disease and vascular dementia. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2002;252(2):63-67

252. Simon JS, Karnoub MC, Devlin DJ, *et al.* Sequence variation in NPC1L1 and association with improved LDL-cholesterol lowering in response to ezetimibe treatment. *Genomics* 2005;86(6):648-656
253. Polisecki E, Peter I, Simon JS, *et al.* Genetic variation at the NPC1L1 gene locus, plasma lipoproteins, and heart disease risk in the elderly. *J Lipid Res* 2010;51(5):1201-1207
254. Stefanutti C, Morozzi C, Petta A. Lipid and low-density-lipoprotein apheresis. Effects on plasma inflammatory profile and on cytokine pattern in patients with severe dyslipidemia. *Cytokine* 2011;56(3):842-849
255. Schamberger BM, Geiss HC, Ritter MM, *et al.* Influence of LDL apheresis on LDL subtypes in patients with coronary heart disease and severe hyperlipoproteinemia. *J Lipid Res* 2000;41(5):727-733
256. Orsoni A, Saheb S, Levels JH, *et al.* LDL-apheresis depletes apoE-HDL and pre- β 1-HDL in familial hypercholesterolemia: relevance to atheroprotection. *J Lipid Res* 2011;52(12):2304-2313
257. Heiser M, Hutter-Paier B, Jerkovic L, *et al.* Vitamin E binding protein afamin protects neuronal cells in vitro. *J Neural Transm Suppl* 2002(62):337-345
258. Kollerits B, Lamina C, Huth C, *et al.* Plasma Concentrations of Afamin Are Associated With Prevalent and Incident Type 2 Diabetes: A Pooled Analysis in More Than 20,000 Individuals. *Diabetes Care* 2017;40(10):1386-1393
259. Tramontana A, Pablik E, Stangl G, *et al.* Combination of first trimester serum afamin levels and three-dimensional placental bed vascularization as a possible screening method to detect women at-risk for adverse pregnancy complications like pre-eclampsia and gestational diabetes mellitus in low-risk pregnancies. *Placenta* 2018;62:9-15
260. Mihara E, Hirai H, Yamamoto H, *et al.* Active and water-soluble form of lipidated Wnt protein is maintained by a serum glycoprotein afamin/ α -albumin. *Elife* 2016;5
261. Nourooz-Zadeh J, Smith CC, Betteridge DJ. Measures of oxidative stress in heterozygous familial hypercholesterolaemia. *Atherosclerosis* 2001;156(2):435-441
262. Yerges-Armstrong LM, Shen H, Ryan KA, *et al.* Decreased bone mineral density in subjects carrying familial defective apolipoprotein B-100. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98(12):E1999-2005
263. Voegelé AF, Jerković L, Wellenzohn B, *et al.* Characterization of the vitamin E-binding properties of human plasma afamin. *Biochemistry* 2002;41(49):14532-14538
264. Armstrong VW, Niedmann D, Eisenhauer T, *et al.* Acute and long-term effects of low-density lipoprotein apheresis on the serum concentrations of vitamins E and A. *Klin Wochenschr* 1988;66(3):123-128

265. Cauza E, Jansen M, Resch U, *et al.* Effects of LDL-immunoapheresis on plasma concentrations of vitamin E and carotenoids in patients with familial hypercholesterolemia. *J Clin Apher* 2004;19(4):174-179
266. Solichová D, Bláha M, Aufartová J, *et al.* The Effect of LDL-Apheresis and Rheohaemapheresis Treatment on Vitamin E. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 2015;61(2):105-112
267. Maes M, Weeckx S, Wauters A, *et al.* Biological variability in serum vitamin E concentrations: relation to serum lipids. *Clin Chem* 1996;42(11):1824-1831
268. Kopprasch S, Bornstein SR, Schwarz PE, *et al.* Single whole blood dextran sulfate adsorption favorably affects systemic oxidative balance in lipoprotein apheresis patients. *Atheroscler Suppl* 2013;14(1):157-160
269. Kopprasch S, Bornstein SR, Bergmann S, *et al.* Long-term therapeutic efficacy of lipoprotein apheresis on circulating oxidative stress parameters--A comparison of two different apheresis techniques. *Atheroscler Suppl* 2015;18:80-84
270. Stefanutti C, Di Giacomo S, Vivenzio A, *et al.* Acute and long-term effects of low-density lipoprotein (LDL)-apheresis on oxidative damage to LDL and reducing capacity of erythrocytes in patients with severe familial hypercholesterolaemia. *Clin Sci (Lond)* 2001;100(2):191-198
271. Violi F, Cangemi R. Statin treatment as a confounding factor in human trials with vitamin E. *J Nutr* 2008;138(6):1179-1181
272. Narushima K, Takada T, Yamanashi Y, *et al.* Niemann-pick C1-like 1 mediates alpha-tocopherol transport. *Mol Pharmacol* 2008;74(1):42-49
273. Shunmoogam N, Naidoo P, Chilton R. Paraoxonase (PON)-1: a brief overview on genetics, structure, polymorphisms and clinical relevance. *Vasc Health Risk Manag* 2018;14:137-143
274. Iyengar ARS, Pande AH. Is Human Paraoxonase 1 the Saviour Against the Persistent Threat of Organophosphorus Nerve Agents? *Protein Pept Lett* 2019;26(7):471-478
275. Fawole OA, Opara UL. Stability of total phenolic concentration and antioxidant capacity of extracts from pomegranate co-products subjected to in vitro digestion. *BMC Complement Altern Med* 2016;16:358
276. Aviram M, Volkova N, Coleman R, *et al.* Pomegranate phenolics from the peels, arils, and flowers are antiatherogenic: studies in vivo in atherosclerotic apolipoprotein e-deficient (E 0) mice and in vitro in cultured macrophages and lipoproteins. *J Agric Food Chem* 2008;56(3):1148-1157
277. Mei Z, Liang M, Li L, *et al.* Effects of statins on cancer mortality and progression: A systematic review and meta-analysis of 95 cohorts including 1,111,407 individuals. *Int J Cancer* 2017;140(5):1068-1081

278. Forbes LV, Kettle AJ. A multi-substrate assay for finding physiologically effective inhibitors of myeloperoxidase. *Anal Biochem* 2018;544:13-21
279. Galijasevic S. The development of myeloperoxidase inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett* 2019;29(1):1-7
280. Wierzbicki AS, Doherty E, Lumb PJ, *et al.* Efficacy of ezetimibe in patients with statin-resistant and statin-intolerant familial hyperlipidaemias. *Curr Med Res Opin* 2005;21(3):333-338
281. Kashiwabara Y, Kobayashi Y, Koba S, *et al.* Gene polymorphism and frequencies of the NPC1L1 gene (rs2072183, rs217434 and rs217428) in Japanese patients with dyslipidemia. *J Clin Pharm Ther* 2014;39(5):551-554
282. Katara P, Yadav A. Pharmacogenes (PGx-genes): Current understanding and future directions. *Gene* 2019;718:144050