

Revaszkularizációs műtéten átesett betegek szérum paraoxonáz aktivitásának vizsgálata

Illyés László¹
Seres Ildikó²
Fülöp Péter²
Paragh György²

¹Szt. Ferenc Kórház,
Kardiológiai Rehabilitációs
Osztály, Miskolc

²Debreceni Egyetem Orvos- és
Egészségtudományi Centrum,
I. Belgyógyászati Klinika,
Debrecen

Levelezési cím: 3534 Miskolc,
Kemény út 4.

Kulcsszavak:
paraoxonáz, ACBG,
HDL-koleszterin

Keywords:
paraoxonase, ACBG,
HDL-cholesterol

Az atheroszklerózis folyamatában a HDL protektív hatását számos vizsgálat bizonyította. A HDL-hez és annak fő lipoproteinjéhez az apoA₁-hez kötött paraoxonáz (PON) fontos szerepet játszik az LDL oxidációjának gátlásában. Jelen tanulmányunkban arra kerestük a választ, hogy revaszkularizációs műtéten átesett betegek esetében hogyan változik a PON aktivitás az egészséges kontrollcsoporthoz képest, és milyen összefüggés figyelhető meg a fenotípus megoszlása, a szívűtét során felhelyezett graftok száma és a lipidértékek között. A vizsgálatba 102 bypass műtéten átesett beteget, és 55 egészséges egyént vontunk be. A szérum paraoxonáz aktivitás szignifikáns mértékben csökkent a betegcsoportban ($p < 0,0001$). Az egységnyi HDL-re és apoA₁-re vonatkozó PON aktivitáscsökkenés is szignifikáns volt ($p < 0,0001$). Nem volt viszont összefüggés a graftok száma és az aktivitáscsökkenés mértéke között. A fenotípus megoszlásában feltűnő volt a csökkent aktivitású homozigóták (AA) magas, 80,39%-os aránya a kontrollcsoport 66,17%-os arányához képest. A koleszterin ($4,26 \pm 0,57$ vs. $6,57 \pm 1,5$ mM; $p < 0,001$), triglicerid ($1,02 \pm 0,4$ vs. $2,37 \pm 1,36$ mM; $p < 0,001$), LDL-koleszterin ($2,57 \pm 0,48$ mM vs. $4,49 \pm 1,41$ mM; $p < 0,0001$) és az apoB100 ($0,74 \pm 0,2$ vs. $1,17 \pm 0,27$ g/l; $p < 0,0001$) szintje szignifikánsan magasabb volt a betegcsoportban, míg a HDL-koleszterin nem szignifikánsan csökkent az egészséges kontrollhoz képest. A HDL fő apolipoproteinje az apoA₁ ($1,35 \pm 0,26$ vs. $1,44 \pm 0,35$ g/l; $p < 0,05$) szignifikánsan magasabb volt a betegcsoportban.

Serum paraoxonase activity in patients with cardiac revascularisation. Several studies have demonstrated the protective effect of HDL in atherosclerosis. Bound to the HDL and its main apolipoprotein, apoA₁, the paraoxonase (PON) has an important role in preventing the LDL against oxidation. In our recent study we measured the serum PON activity in patients with cardiac revascularisation compared with healthy control individuals and also studied the connection between the phenotypic distribution of PON, the number of grafts and the lipid values. 102 cardially revascularised patients and 55 healthy subjects were involved in this study. The serum paraoxonase activity was significantly reduced in the patient group ($p < 0.001$), and the PON activities related to one unit of HDL (PON/HDL) and apoA₁ (PON/apoA₁) were significantly decreased, respectively ($p < 0.0001$). We didn't find correlation between the number of grafts and the value of activity reduction. The high rate of the low-activity AA homozigotes (80.39%) in the patient group was prominent, compared with the 66.17% of the control group. The cholesterol (4.26 ± 0.57 vs. 6.57 ± 1.5 mM; $p < 0.001$), triglyceride (1.02 ± 0.4 vs. 2.37 ± 1.36 mM; $p < 0.001$), LDL-cholesterol (2.57 ± 0.48 vs. 4.49 ± 1.41 mM; $p < 0.001$) and apoB100 (0.74 ± 0.2 vs. 1.17 ± 0.27 g/L; $p < 0.0001$) levels were significantly elevated, while the HDL-cholesterol level was non-significantly decreased in the patients. The value of the apoA₁ – the main apolipoprotein of the HDL – showed a significant increase in the patient group (1.35 ± 0.26 vs. 1.44 ± 0.35 g/L; $p < 0.05$).

Hazánkban, a közép-kelet-európai országokéhoz hasonlóan, a kardiovaszkuláris megbetegedések változatlanul a morbiditási és mortalitási statisztikák élén állnak (1). Az elmúlt évtizedek nagy epidemiológiai vizsgálatai bizonyították a rizikótényezők szerepét az érlemezsedés kialakulásában (2, 3, 4). Ezek közül is megkülönböztetett figyelem illeti a lipidabnormalitásokat. Mai ismereteink szerint az ateroszklerózis kialakulása szempontjából a módosult LDL-nek jelentős szerepe van. Az érfalban lévő sejtek közül az endothelsejtek, simaizomsejtek, és a makrofágok képesek az LDL oxidációjára (5). Emellett azonban az extracelluláris lipidperoxidok, oxigén szabadgyökök, illetve fémionok is képesek oxidálni a keringő LDL-partikulumot (6). Amellett, hogy az oxidált LDL-citotoxikus az érfal sejteire, a keringésben lévő monocytamakrofágokra kemotaktikus és kemosztatikus hatást fejt ki (7). Ennek eredményeként az oxidált LDL-t a sejtek a natív LDL-receptorokon keresztül nem tudják felvenni, hanem ezek felvétele a makrofágokon és makrofág-szerű sejteken jelenlévő scavenger receptoron keresztül történik (8, 9). Azonban ez nem indítja be azt a szabályozó mechanizmust, amely a natív LDL-receptoron történő felvétel során észlelhető. A makrofágok koleszterintartalma így megnő, és ún. habos sejtekké alakulnak át, amely az atherogenezis kezdeti lépése.

Az elmúlt évek vizsgálatai rámutattak arra, hogy a HDL képes gátolni az ateroszklerózis kialakulását (10, 11, 12). Ez a gátló hatás részben a HDL által biztosított reverz koleszterintranszporttal, másrészt a HDL-hez kötött antioxidáns hatással magyarázható (12, 13). Ezért az antioxidáns hatásért elsősorban a paraoxonáz (PON) felelős, amely főleg az apolipoprotein A₁ komponenshez kötődik (14). A paraoxonáz egy 43 kDa molsúlyú glikoprotein, a májban termelődik, és stabilizálásához, aktivitásához kalciumion szükséges. Az antioxidáns hatásban egy arachidonsavat tartalmazó három vagy négy oxigénnel peroxidált fosfolipid molekula játszhat szerepet szubsztrátként. Az

enzim génje a 7-es kromoszómán helyezkedik el, és a keringésben három különböző aktivitású fenotípusa mutatható ki. Az AA kis aktivitású, az AB közepes aktivitású, a BB nagy aktivitású forma (15).

Ezek mindössze egy aminosavban különböznek egymástól, mégpedig a 192-es helyen az aktív centrumban az A fehérjében glutamin, míg a B-ben arginin található (16). Korábbi vizsgálatok kimutatták, hogy diabetes mellitusban, miokardiális infarktusból, familiáris hypercholesterinaemiában, krónikus veseelégtelenségben és vesetranszplantációt követően a HDL-hez kötött paraoxonáz aktivitás csökken (17, 18, 19, 20).

Jelen tanulmányunkban arra voltunk kíváncsiak, hogy a revaszkularizációs szívműtéten átesett betegek körében hogyan változik a paraoxonáz aktivitás, valamint van-e összefüggés a változás és a felhelyezett graftok száma között.

Betegek és módszerek

A vizsgálatba 102 olyan beteget vontunk be, akiknek revaszkularizációs műtete legalább 3 hónappal korábban történt és nem haladta meg az 1 évet. Kontrollcsoportként 55 egészséges egyén vérmintájából nyert adatokat használtuk.

Mindkét csoport demográfiai paramétereit az 1. táblázat mutatja be. A bypass műtéten átesett betegek megoszlását a felhelyezett graftok száma szerint az 1. ábra szemlélteti.

A lipidszintek mérése

A szérumban koleszterin és triglicerid koncentrációját a Boehringer Mannheim GmbH diagnosztikai enzim kittel, a HDL-szint meghatározása foszfor-wolframat-magnézium precipitációt követően történt. Az LDL-koleszterin meghatározását a Friedewald-formula szerint végeztük. Az apolipoprotein koncentrációt immunnephelometriás módszerrel, Orion Diagnostica kit segítségével vizsgáltuk.

1. táblázat: Demográfiai és lipidparaméterek a kontroll és betegcsoport között

	Kontroll	Beteg	p érték
Esetszám	55	102	
Férfi	41	75	
Nő	14	27	
Kor (év)	27,37±5,67	62,12±9,41	
Testtömegindex (kg/m ²)	23,19±2,03	25,08±3,87	
Koleszterin (mM)	4,26±0,57	6,57±1,5	<0,001
Triglicerid (mM)	1,02±0,4	2,37±1,36	<0,0001
HDL-C (mM)	1,21±0,35	1,15±0,38	NS
LDL-C (mM)	2,57±0,48	4,49±1,41	<0,0001
ApoA ₁ (g/l)	1,35±0,26	1,44±0,35	<0,05
ApoB (g/l)	0,74±0,2	1,17±0,27	<0,0001

k el, és a
notípusa
epes ak-

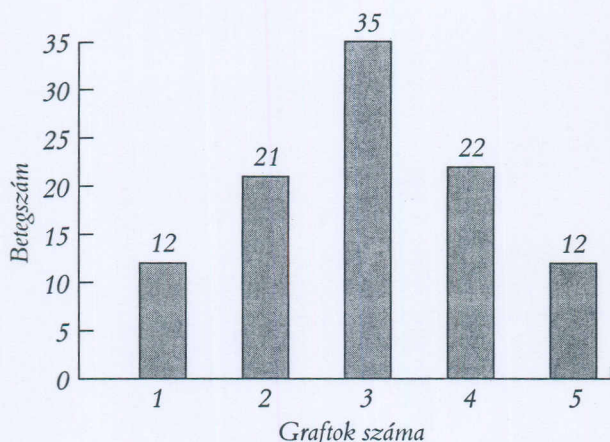
tek egy-
rumban
találha-
diabetes
áris hy-
lenség-
hez kö-
(0).
k, hogy
k köré-
alamin
graftok

kiknek
koráb-
ontroll-
l nyert

. táblá-
k meg-
1. ábra

ióját a
enzim
ramat-
LDL-
rmula
trációt
ignos-

Illyés: Revaszkularizációs műtéten átesett betegek szérumban paraoxonáz aktivitásának vizsgálata



1. ábra. A betegek megoszlása a felhelyezett graftok száma szerint

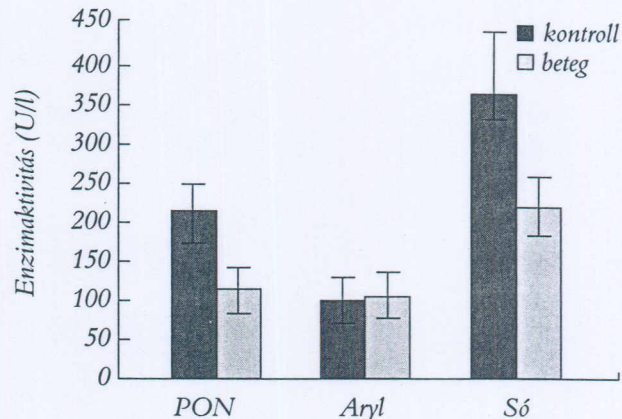
A paraoxonáz aktivitás mérése

A paraoxonáz (PON) aktivitás mérésekor paraoxont (O,O-dietil-O-p-nitrofenilfoszfát; Sigma Chemical Co.) alkalmaztunk szubsztrátként, amely a szérumban lévő paraoxonáz hatására 4-nitrofenollá alakul át, abszorpció növekedést okozva 412 nm-en. Mérésre 50 ml szérumhoz 1 ml Tris/HCl puffert (100 mM, pH 8,0) adtunk, amely 2 mM CaCl_2 -t és 5,5 mM paraoxont tartalmazott. A 4-nitrofenol keletkezését 412 nm-en 25°C-on követtük, Hewlett-Packard 8453 UV-visible spektrofotométer segítségével. Az enzimaktivitás számítása a moláris extinkciós koefficiens ($17\ 100\ \text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) segítségével történt (21).

A paraoxonáz fenotípus meghatározása

A paraoxonáz fenotípus meghatározása kettős szubsztrát módszerrel történt, a szubsztrát paraoxon és fenilacetát volt.

Paraoxon szubsztrát használatkor 1 M koncentrációban NaCl-ot is adtunk, az ún. NaCl stimulált aktivitás méréséhez. NaCl jelenlétében ugyanis az enzim aktív helyének konformációs állapota megváltozik, amely a paraoxon könnyebb kötődését és gyorsabb át-



2. ábra. A PON az arilészteráz (Aryl) és a NaCl-stimulált aktivitás a kontroll és a betegcsoport között

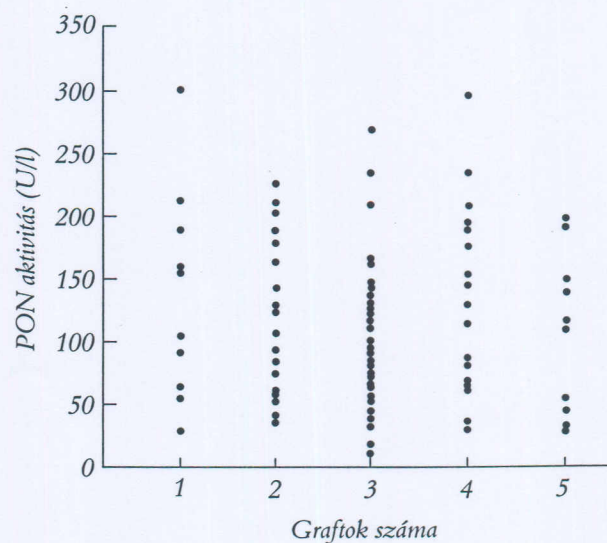
alakítását eredményezi, ezáltal nagyobb paraoxonáz aktivitás detektálható. Fenilacetát szubsztráttal az enzim aril-észteráz aktivitását mérhetjük. Ezen méréskor a szérumhoz 20 mM Tris/HCl pufferben (pH 8,0) 1 mM fenilacetát oldatot használtunk; az abszorpció növekedését 270 nm-en követtük.

A NaCl-stimulált PON aktivitás és az arilészteráz aktivitás hányadosa jelöli ki a három, különböző aktivitással jellemezhető fenotípust: AA (kis aktivitású homozigóta), AB (közepes aktivitású heterozigóta), BB (nagy aktivitású homozigóta) (22).

Statisztikai módszerek

A statisztikai analízist a SASTM for Windows TM 6.11 program végezte. Az adatokat leíró analízissel jellemeztük (esetszám, középérték, szórás). A betegek és

3. ábra: A PON aktivitás változása a felhelyezett graftok számának függvényében



2. táblázat. Fenotípus megoszlása a kontroll és betegcsoport között

	Fenotípus megoszlása		
	AA	AB	BB
Kontroll	66,67%	26,67%	6,67%
Beteg	80,39%	18,62%	0,98%

AA alacsony aktivitású homozigóta fenotípus
AB közepes aktivitású heterozigóta fenotípus
BB nagy aktivitású homozigóta fenotípus

a kontrollcsoport adatainak összehasonlítása kétmin-
tás t-próbával és ANOVA teszttel történt. A paramé-
terek közti összefüggések vizsgálatára regressziós és
korrelációs analíziseket végeztünk.

Eredmények

A revaszkularizációs műtéten átesett betegeknél a
paraoxonáz aktivitás és a só-stimulálta PON aktivitás
szignifikánsan alacsonyabb volt a kontrollcsoporthoz
képest ($p < 0,001$) (2. ábra).

A kontrollcsoportban az alacsony aktivitású fenotípus
(AA) aránya 66,67%, a betegcsoportban 80,39% volt.
A közepes aktivitású (AB) a referencia csoportban
26,67% volt, szemben a betegcsoport 18,62%-os ará-
nyával. Hasonló mértékű differencia volt észlelhető a
nagy aktivitású (BB) fenotípusban a két csoport kö-
zött (6,67% vs. 0,98%) (2. táblázat). Megvizsgáltuk azt,
hogy van-e összefüggés a felhelyezett graftok száma és
a paraoxonáz aktivitása között. Azt találtuk, hogy a
PON aktivitás és a graftszám között nem volt össze-
függés (3. ábra).

Az összkoleszterin, triglicerid, LDL-koleszterin ese-
tében szignifikáns emelkedést észleltünk a betegcso-
portban a kontrollcsoporthoz képest. A HDL-kolesz-
terin esetében szignifikáns különbség nem volt, sőt a
HDL fő lipoproteinje az apoA₁ szignifikáns mérték-
ben emelkedett volt ($p < 0,05$) a betegcsoportban az
egészséges kontrollcsoporthoz képest. Az apoB100, az
LDL partikulum fő lipoproteinje viszont szignifikán-
san emelkedett a betegcsoportban (1. táblázat).

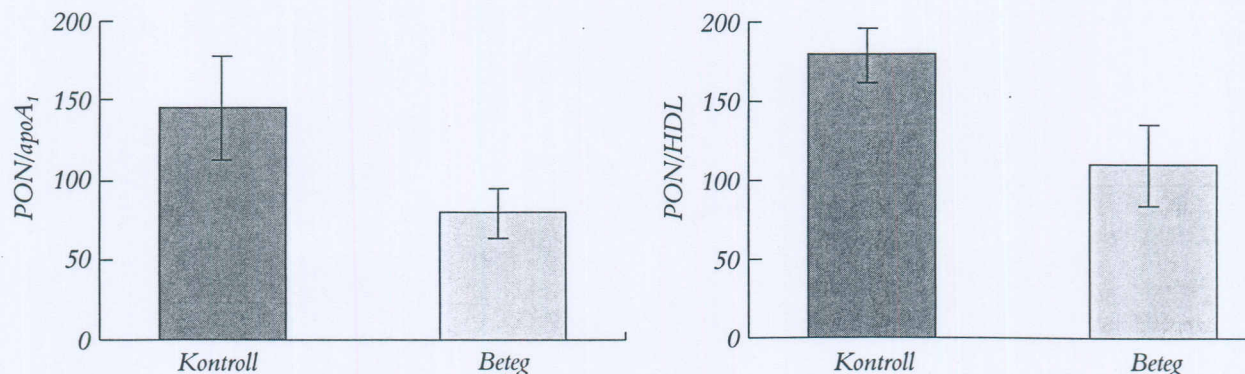
Bár a HDL-koleszterin vonatkozásában a két csoport
között különbség nem volt, meghatároztuk az egy-
ségnyi HDL-re és apoA₁-re vonatkozó enzimaktivi-
tást (PON/HDL, PON/apoA₁). A betegcsoportban
mindkét esetben szignifikáns mértékű volt a csökke-
nés (4. ábra).

Megbeszélés

Bizonyított tény, hogy a dyslipidaemia jelentős szere-
pet játszik az ateroszklerózis kialakulásában. A kolesz-
terin, triglicerid és LDL-koleszterin mellett az utóbbi
évek vizsgálatai ráirányították a figyelmet a HDL-kol-
eszterin szerepére, amely az előbbiekkal ellentétben
negatív korrelációt mutat az érlemezésedés folyama-
tában (23). A HDL-hez és fő apolipoproteinjéhez, az
apoA₁-hez kötött paraoxonáz aktivitással kapcsolatban
számos korábbi vizsgálat történt, amelyek felhívják a
figyelmet arra, hogy az enzim az oxidatív folyamatok
gátlásával az érlemezésedés megelőzésében szerepet
játszhat (13, 24).

Pearson és mtsai. azt vizsgálták, hogy a HDL-szint és a
koronáriszklerózis között milyen kapcsolat figyelhe-
tő meg. Azt találták, hogy az alacsony HDL-szinttel
rendelkező egyéneknek gyakrabban figyelhető meg
több érbetegség és a bal főtörzs érintettsége (25). El-
lentétben Pearson és munkatársainak megfigyelésével,
jelen vizsgálatunkban nem találtunk szignifikáns eltér-
ést a több érbetegséggel műtetre került betegek és az
egészséges kontrollcsoport HDL-szintjében. Skinner
és mtsai. azt találták 5 évvel a koronária bypass után tör-
tént vizsgálatukban, hogy a magasabb apolipoprotein
A₁ koncentráció csökkent mortalitással függött össze
(26). Érdekes módon jelen vizsgálatunkban a beteg-
csoportban a HDL fő apolipoproteinje, az apoA₁ szig-
nifikánsan magasabb volt az egészséges kontrollcso-
porthoz képest. Mivel a PON a HDL-hez kötődik és
az aktivitásában jelentős szerepe van az apoA₁-nek kí-
váncsiak voltunk arra, hogy hogyan változik a PON
aktivitás, és azt találtuk, hogy szignifikánsan csökkent
az egészséges csoporthoz képest. Mivel a HDL és az
ateroszklerózisban érintett erek száma között nem ta-
láltunk összefüggést kíváncsiak voltunk arra, hogy a
csökkent PON aktivitás és a graftok száma között van-
e korreláció. Nem találtunk összefüggést a PON akti-

4. ábra. Egységnyi HDL és apoA₁-re vonatkozó aktivitás a kontroll és betegcsoport között



vitás
kimu
beteg
nyun
an m
san a
vítás
tegs
fenot
arány
onáz
nek c
tás n

Irodalom

1. Varg
oko:
Uni
2. Gon
prote
The
3. Fricl
ry-pr
dysli
cinda
1237
4. Mult
iple
mort
5. Stein
tion
Sci U
6. Halli
Curr
7. Stein
stero
its atl
8. Ende
cepto
268:
9. Witzt
prote
10. Mack
tial to
243-2
11. Parth
inhibi
Bioch
12. Pome
choles
foam c
13. Maier
high-c
induc
1994;
14. Watso

itós szere-
A kolesz-
az utóbbi
HDL-ko-
llentétben
s folyama-
njéhez, az
ocsolatban
felhívják a
olyamatok
s szerepet

-szint és a
figyelhe-
L-szinttel
iető meg
(25). El-
yelésével,
káns elté-
gek és az
1. Skinner
után tör-
oprotein
ött össze
a beteg-
oA₁ szig-
itrollcso-
ötődik és
-nek kí-
a PON
csökkent
DL és az
nem ta-
, hogy a
zött van-
ON akti-

vitás és az érintett erek száma között. *McElveen és mtsai.* kimutatták, hogy koronáriszklerózisban szenvedő betegek PON aktivitása csökkent (20). Jelen tanulmányunkban *McElveen és mtsai.* eredményeihez hasonlóan mi is azt találtuk, hogy a PON aktivitás szignifikánsan alacsonyabb volt a betegcsoportban. A PON aktivitás csökkenésében szerepe lehet annak is, hogy a betegcsoport több, mint 80%-a csökkent aktivitású AA fenotípusba tartozott, míg a kontrollcsoportban ez az arány 67% volt. Felvetődik az a kérdés, hogy a paraoxonáz aktivitás alacsony szintje az enzim mennyiségének csökkenésével függ-e össze. Az arilészteráz aktivitás nem szignifikáns változása arra utal, hogy a PON

aktivitás csökkenésében nem az enzim alacsonyabb mennyisége játsza az elsődleges szerepet a fenti betegcsoportban. Feltételezhetően a hyperlipidaemia miatt a HDL összetételének megváltozása kedvezőtlen feltételt teremt az enzimaktivitás kialakulásához. Bár a kontroll és betegcsoport között jelentős kordiferencia volt, pillanatnyilag nincsenek adatok a szakirodalomban arra vonatkozóan, hogy az életkor előrehaladtával a PON aktivitás csökkenne. Eredményeink azt sugallják, hogy a PON aktivitás csökkenése szerepet játszhat a lipidparamétereken kívül a koronáriszklerózis kialakulásában, de a megbetegedett érszakszok számát a csökkenés mértéke nem befolyásolja.

Irodalom

1. Vargáné Hajdú P, Ádány R. A keringési rendszer betegségei okozta korai halálozás trendjei Magyarországon és az Európai Unióban, 1970-1997. *Orv Hetil* 2000; 141(12): 601-607.
2. Gordon T, Castelli W, Hjortland MC, et al. High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease. The Framingham Study *Am J Med* 1977; 62: 707-714.
3. Frick MH, Elo O, Haapa K, et al. Helsinki Heart Study: primary-prevention trial with gemfibrozil in middle-aged men with dyslipidemia. Safety of treatment, changes in risk factors, and incidence of coronary heart disease. *New Engl J Med* 1987; 317: 1237-1245.
4. Multiple Risk Factor Intervention Trial Research Group: Multiple Risk Factor Intervention Trial: Risk factor changes and mortality result. *JAMA* 1982; 248: 1465-1477.
5. Steinbrecher UP, Parthasarathy S, Leake DS, et al. Modification of low density lipoprotein phospholipids. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984; 81: 3883-3887.
6. Halliwell B. Mechanism of low-density lipoprotein oxidation. *Curr Opin Lipidol* 1993; 4: 382-384.
7. Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE, et al. Beyond cholesterol: modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *New Engl J Med* 1989; 320: 915-924.
8. Endemann G, Stanton L. W., Madden KS, et al. CD 36 is a receptor for oxidized low-density lipoprotein. *J Biol Chem* 1993; 268: 11811-11814.
9. Witztum JL, Steinberg D. Role of oxidized low-density lipoprotein in atherogenesis. *J Clin Invest* 1991; 88: 1785-1792.
10. Mackness MI, Durrington PN. HDL, its enzymes and its potential to influence lipid peroxidation. *Atherosclerosis* 1995; 115: 243-253.
11. Parthasarathy S, Barnett J, Fong LG. High-density-lipoproteins inhibit the oxidative modification of low-density-lipoproteins. *Biochim Biophys Acta* 1990; 1044: 275-283.
12. Pomerantz KB, Hajar DP. High-density-lipoprotein-induced cholesterol efflux from arterial smooth muscle cells derived from foam cells. *Biochemistry* 1990; 29: 1892-1899.
13. Maier JAM, Barengi L, Pagani F, et al. The protective role of high-density lipoprotein on oxidized-low-density-lipoprotein-induced U937/endothelial cell interactions. *Eur J Biochem* 1994; 221: 35-41.
14. Watson AD, Berliner JA, Hama SY, et al. Protective effect of high density lipoprotein associated paraoxonase. Inhibition of the biological activity of minimally oxidized low density lipoprotein. *J Clin Invest* 1995; 96: 2882-2891.
15. Eiberg H, Mohr J, Schmiegelow K. Linkage relationships of paraoxonase (PON) with other markers: indication of PON-cystic fibrosis synten. *Clin Genet* 1985; 28: 265-270.
16. Ruiz J, Blanche H, James RW, Blatter-Garin M-C, et al. Gln-Arg 192 polymorphism of paraoxonase and coronary heart disease in type 2 diabetes. *Lancet* 1995; 346: 869-872.
17. Paragh Gy, Seres I, Balogh Z, et al. The serum paraoxonase activity in patients with chronic renal failure and hyperlipidaemia. *Nephron* 1998; 80: 166-170.
18. Paragh Gy, Asztalos L, Seres I, et al. Serum paraoxonase activity changes in uremic and kidney transplanted patients. *Nephron* 1999; 83: 126-131.
19. 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: 1812-1818.
20. McElveen J, Mackness MI, Colley CM, et al. Distribution of paraoxon hydrolytic activity in the serum of patients after myocardial infarction. *Clin Chem* 1986; 32: 671-673.
21. La Du BN, Eckerson HW. The polymorphic paraoxonase/aryl-esterase isozymes of human serum. *Fed Proc* 1984; 43: 2338-2341.
22. Watson AD, Navab M, Hama SY, et al. Effect of platelet-activating factor-acetylhydrolase on the formation and action of minimally oxidized low-density lipoprotein. *J Clin Invest* 1995; 95: 774-782.
23. Rader DJ, Haffner SM. Role of fibrates in the management of hypertriglyceridemia. *Am J Cardiol* 1999; 83: 30F-35F.
24. Parthasarathy S, Barnett J, Fong LG. High density lipoprotein inhibits the oxidative modification of low density lipoprotein. *Biochim Biophys Acta* 1990; 1044: 275-283.
25. Pearson TA, Bulkley BH, Achuff SC, et al. The association of low levels of HDL cholesterol and arteriographically defined coronary artery disease. *Am J Epidemiol* 1979; 109: 285-295.
26. Skinner JS, Farrer M, Albers CJ, et al. High apolipoprotein A₁ concentrations are associated with lower mortality and myocardial infarction five years after coronary artery bypass graft surgery. *Heart* 1999; 81: 488-494.