

**EGYETEMI DOKTORI (Ph.D.) ÉRTEKEZÉS**

**A PON1 enzim paraoxonáz és laktonáz aktivitásának  
változása hemodializált és transzplantált krónikus  
veseelégtelen betegekben**

**Dr. Sztanek Ferenc**

**Témavezető: Prof. Dr. Paragh György**



**DEBRECENI EGYETEM**

**EGÉSZSÉGTUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA**

**Debrecen, 2013**

# Tartalomjegyzék

|                                                                                                                   |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. Bevezetés és irodalmi áttekintés .....                                                                         | 3  |
| 1.1. A krónikus veseelégtelenség definíciója, etiológiája és jellemzői .....                                      | 4  |
| 1.2. A krónikus veseelégtelenség kezelési lehetőségei .....                                                       | 7  |
| 1.3. Az érlemeszesedés folyamata.....                                                                             | 8  |
| 1.4. A krónikus veseelégtelenség és a kardiovaszkuláris betegségek .....                                          | 10 |
| 1.5. A krónikus veseelégtelenség és a hyperhomociszteinaemia .....                                                | 12 |
| 1.6. A krónikus veseelégtelenség és a HDL-koleszterol .....                                                       | 14 |
| 1.7. A krónikus veseelégtelenség és a paraoxonáz (PON1) enzim .....                                               | 15 |
| 1.8. A krónikus veseelégtelenség és az aszimmetrikus dimetilarginin .....                                         | 20 |
| 1.9. A krónikus veseelégtelenség és az adipokinek.....                                                            | 23 |
| 1.10. A krónikus veseelégtelenség és az alultápláltság.....                                                       | 25 |
| 2.Célkitűzések .....                                                                                              | 28 |
| 3. Betegek és módszerek .....                                                                                     | 29 |
| 3.1. Betegek kiválasztása .....                                                                                   | 29 |
| 3.2. Vérvétel és módszerek.....                                                                                   | 30 |
| 3.3. A lipidparaméterek mérése.....                                                                               | 30 |
| 3.4. A PON1 paraoxonáz és arilészteráz aktivitások meghatározása.....                                             | 31 |
| 3.5. A PON1 laktonáz aktivitás meghatározása .....                                                                | 31 |
| 3.6. Az ADMA koncentráció mérése .....                                                                            | 32 |
| 3.7. Az adiponektin és leptin koncentrációk meghatározása.....                                                    | 32 |
| 3.8. A fenotípus-megoszlás és a genotípusok meghatározása.....                                                    | 32 |
| 3.9. A homocisztein és cisztatin C koncentrációk meghatározása .....                                              | 33 |
| 3.10. Statisztikai módszerek.....                                                                                 | 34 |
| 4. Eredmények.....                                                                                                | 36 |
| 4.1. A hemodializált és vesetranszplantált betegek PON1 paraoxonáz és laktonáz aktivitásának meghatározása .....  | 36 |
| 4.2. A hemodializált betegek PON1 paraoxonáz és laktonáz aktivitásának összefüggése a tápláltsági állapottal..... | 45 |
| 5. Megbeszélés .....                                                                                              | 53 |
| 6. Összefoglalás.....                                                                                             | 60 |
| 7. Irodalomjegyzék.....                                                                                           | 63 |
| 8. Rövidítések, tárgyszavak és köszönetnyilvánítás.....                                                           | 80 |



**A Debreceni Egyetem  
tudományos képzési  
műhelyeinek támogatása  
TÁMOP-4.2.2/B-10/1-  
2010-0024**



## 1. Bevezetés és irodalmi áttekintés

A krónikus veseelégtelenség fokozott oxidatív stresszel, az endothelium diszfunkciójával és felgyorsult érlelmeszesedéssel együtt járó kórfolyamat, melyben jelentősen fokozódik a szív- és érrendszeri megbetegedések kialakulása is. A HDL-hez kötött paraoxonáz (PON1) enzim gátolja az oxidált LDL képződését, ezáltal lassítja az atherosclerosis folyamatát. Számos tanulmány igazolta, hogy az alacsony PON1 paraoxonáz aktivitás fokozott oxidatív stresszel társul és ezzel együtt a kardiovaszkuláris morbiditás is megnövekszik. A PON1 enzim laktonáz aktivitással is rendelkezik, hidrolizálja a homocisztein metabolizmusa során keletkező homocisztein-tiolaktont és gátolja a fehérjék oxidatív károsodását. Az utóbbi években megjelent kutatási eredmények alapján az oxidatív stressz egyik legmegbízhatóbb markereként jellemzett, a fehérjék metilációja és lebontása során keletkező aszimmetrikus dimetilarginin (ADMA) vesén keresztül történő eliminációja károsodik a hemodializált betegekben, és az emelkedett ADMA koncentráció a nitrogén-monoxid szintáz (NOS) inhibitoraként hozzájárul az endothelium diszfunkciójához.

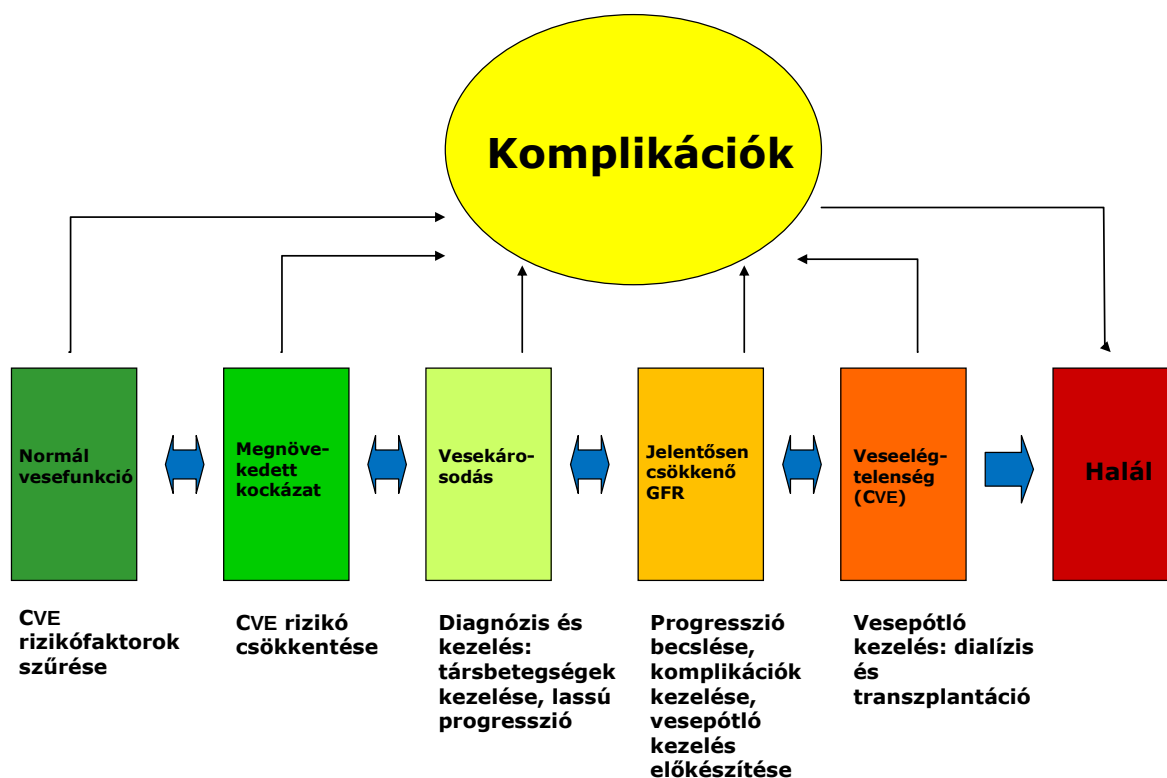
Munkacsoportunk évek óta foglalkozik a PON1 paraoxonáz és laktonáz aktivitásának vizsgálatával hemodializált és vesetranszplantált betegekben és célul tűztük ki, hogy összefüggést találjunk a PON1 laktonáz aktivitás és számos egyéb, a krónikus veseelégtelenségben kiemelkedő fontosságú kardiovaszkuláris rizikófaktor között. Korábbi eredményeink arra utaltak, hogy krónikus veseelégtelenségben a PON1 paraoxonáz és laktonáz aktivitások a tápláltsági állapottól függően is változhatnak, és ez befolyásolhatja az atherosclerosis progresszióját ezekben a betegekben.

Munkánk során azt találtuk, hogy a PON1 enzim laktonáz aktivitása új és potenciálisan jól használható paraméter lehet a kardiovaszkuláris rizikó becslésére krónikus veseelégtelenségben. Eredményeink alapján azt is feltételezzük, hogy a PON1 paraoxonáz aktivitás indikátora lehet a veseelégtelenség és az érlemeszesedés progressziójának mind az alultáplált, mind az elhízott hemodializált betegekben.

### **1.1. A krónikus veseelégtelenség definíciója, etiológiája és jellemzői**

A krónikus veseelégtelenség (CVE) a vesék strukturális és funkcionális károsodásával jellemezhető heterogén betegségcsoport, a vese vizeletkiválasztó és hormonális funkciójának irreverzibilis és progresszív beszűkülését jelenti. Végstádiumú veseelégtelenségről (ESRD) akkor beszélünk, ha a veseműködés olyan komolyan károsodik, hogy a beteg vesepótló (dialízis) kezelésre szorul. A veseműködést a glomeruláris filtrációs ráta (GFR) kiszámításával jellemezhetjük, melynek normál értéke fiatal felnőtteknél, testfelszínre számítva 90-120 ml/perc/1,73m<sup>2</sup>, ez negyvenéves életkor felett évente 1 ml/perc/1,73m<sup>2</sup>-rel csökken. A klinikai gyakorlatban többnyire a szérum kreatinin-szint, testsúly, az életkor és a nem alapján számított, becsült GFR (estimated GFR, eGFR) alkalmazása terjedt el.

A CVE gyakran tünetszegény a betegség korai stádiumában, a tünetek később jelentkeznek, már a komplikációkkal együtt, mint az anaemia, hyperparathyreosis, gyógyszerek toxicitásának fokozott veszélye, cardiovascularis betegségek, fokozott infekcióhajlam, általános fizikai és szellemi állapotromlás (**1. ábra**).



**1. ábra:** A krónikus veseelégtelenség progressziójának klinikai stádiumai és a terápiás lehetőségek (1)

A National Kidney Foundation, Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (NKF/KDOQI) definíciója szerint idült veseelégtelenségről beszélünk, ha a beteg GFR értéke legalább 3 hónapon keresztül 90 ml/perc értéknél alacsonyabb (1).

A CVE a fenti irányelv alapján az alábbi stádiumokba sorolható (**1. táblázat**):

| CVE stádiuma | GFR (ml/perc/1,73m <sup>2</sup> ) | Jellemzés                                                                                                                                                       |
|--------------|-----------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| I            | 90-120                            | Normál vesefunkció mellett a vizeletminta eltérései, strukturális vagy genetikai rendellenességek utalhatnak a vesebetegség jelenlétére.                        |
| II           | 60-89                             | Korai veseelégtelenség: a GFR csökkenése nem haladja meg az életkornak megfelelő érték 50%-át. Kifejezett klinikai tüneteket még egyáltalán nem vagy alig okoz. |
| III          | 30-59                             | Mérsékelten beszűkült vesefunkció. Egyre inkább előtérbe kerülnek a klinikai tünetek.                                                                           |
| IV           | 15-29                             | Súlyosan beszűkült vesefunkció. A kompenzatorikus hiperfiltráció már olyan mértékű lehet, hogy rövid idő alatt a még működő nefronok pusztulásához vezethet.    |
| V            | <15                               | Végstádiumú veseelégtelenség (end-stage renal disease, ESRD). Vesepótló kezelést (dialízis, transzplantáció) tesz szükségessé.                                  |

**1. táblázat:** A krónikus veseelégtelenség stádiumai és jellemezésük

A CVE háttérében leggyakrabban cukorbetegség (40%) vagy hypertonia (27%) okozta vesekárosodás, akut vagy krónikus glomerulonephritis (13%), vasculáris vagy postrenalis eredetű károsodás (6%), polycystás vesebetegség (4%) vagy krónikus tubulointerstitialis nephritis (4%) áll, de az esetek egy részében alapbetegség nem deríthető ki.

Magyarországon becslések szerint a krónikus veseelégtelenségben szenvedő betegek száma 500.000 körülire tehető. Ezen betegek 12%-a áll jelenleg nephrológiai gondozás alatt (kb. 60.000 beteg), túlnyomó többségüknek (kb. 85%-nak) enyhe fokú veseelégtelensége van.

10.000 betegnek azonban 60 ml/perc alatti a GFR szintje és legalább egyötödük Hgb koncentrációja 110 g/l alatt van (ún. renalis anaemia) (2).

## **1.2. A krónikus veseelégtelenség kezelési lehetőségei**

Az utóbbi évtizedekben a krónikus veseelégtelenségben szenvedő betegeknél a károsodott veseműködés pótlását hemodialízis vagy peritoneális dialízis kezeléssel oldják meg és egyre nő azon betegek száma, akiknél lehetőség nyílik a szervműködés helyreállítására működőképes donorszerv transzplantációjával. AzUSRDS (United States Renal Data System) regisztere mellett európai szerzők vizsgálatai is megerősítették, hogy a vesetranszplantáció az arra alkalmas betegek számára jobb életminőséget és hosszabb várható élettartamot is biztosít a hemodialízis és a peritoneális dialízis kezelésekhöz képest (3). Több tanulmány igazolta, hogy még a 70 év feletti veseelégtelen betegek számára is életvényerességgel járhat a vesetranszplantáció (4, 5).

Az immunszuppresszív terápia is jelentős fejlődésen ment keresztül az utóbbi évtizedekben. Korábban az azathioprint, a cyclosporin-A-t és a kortikoszteroidokat használták a veseátültetést követően a kilökődési immunreakció elnyomására. Az 1990-es évek közepétől a calcineurin gátló tacrolimus és a lymphocyta proliferációt gátló mycophenolat mofetil, az ún. mTOR inhibitorok (a sirolimus és az everolimus), illetve interleukin-2 receptorhoz kötődő monoklonális - kiméra (basiliximab) és humanizált (daclizumab) - IgG antitestek is elérhetővé váltak a transzplantátum kilökődésének hatékony megelőzésére (6).

Érdemes kiemelni, hogy a végstádiumú veseelégtelenségben a dialízis kezelésre szoruló betegek kardiovaszkuláris halálozásának a fokozódását az előrehaladott érlelmeszesedéssel összefüggő coronaria eredetű szívbetegségek miatt találták magasabbnak. Az irodalmi adatok

alapján azt mondhatjuk, hogy a hemodializált betegek kardiovaszkuláris halálozásának a gyakorisága 12-20-szor nagyobb az átlagpopulációhoz viszonyítva (7). A vesetranszplantációt követően ez a mortalitás jelentősen csökken, de még mindig 4-5-ször magasabb az átlaghoz képest (8).

### **1.3. Az érlemeszesedés folyamata**

Az érlemeszedés kialakulásában számos faktor játszik szerepet: a vérkeringésben lévő különböző lipoproteinek, a thrombocyták, a monocyták, a fehérvérsejtek által termelt citokinek, az ér-endothelsejtek, az érfal simaizomsejtjei, a fibroblastok és a makrofágok bonyolult kölcsönhatása révén alakul ki az atherosclerotikus plakk. Ezen tényezők hatására fokozódik az érfal permeabilitása, a lipidek érfalban történő lerakódása és oxidációja, gyulladásos folyamatok révén az érfal lokális átépülése, „meszesedése” jön létre (9). A Framingham study, és több nagyobb prevenciós vizsgálat [Helsinki Heart Study (10), MRFIT (11), 4S (12), LIPID (13)] igazolta, hogy a magas koleszterol szint, a magas LDL- és triglicerid-szintek és az alacsony HDL-koncentráció a coronariabetegségek kialakulásának meghatározó rizikófaktorai. Ilyen a lipid eltérésekkel, dyslipidaemiával jár a magasvérnyomás-betegség, a kifejezett elhízás (obezitás), a 2-es típusú cukorbetegség és a krónikus veseelégtelenség is. Ezenkívül a dohányzás, a stresszes életvitel és a mozgásszegény életmód, különböző genetikai tényezők is befolyásolják a dyslipidaemia kialakulását, ezek a tényezők az irodalomban ún. tradicionális rizikófaktorokként szerepelnek. Az említett tanulmányok igazolták, hogy a zsírszegény, rostús diéta és/vagy gyógyszeres lipidcsökkentő kezelés a kardiovaszkuláris megbetegedések kockázatát csökkentik, az összkoleszterol-szint 1%-os csökkentése 2-3%-kal csökkenti a coronaria-betegség gyakoriságát. A Framingham



study arra is rámutatott, hogy a HDL-szint 0,1 mmol/l-nyi csökkenésével együtt a koszorúér-betegség gyakorisága 10%-kal emelkedik.

Az atherosclerosis folyamatában kulcslépés az LDL érfalban való felhalmozódása és oxidációja, az oxLDL-képződés (9). Az oxLDL-ben reaktív aldehidek, peroxidok és oxidatíván károsodott foszfolipidek képződnek, melyek az érendothel felszínén fokozott sejtadhéziós molekulák (ICAM – sejtek közötti és VCAM – vaszkuláris sejtadhéziós molekulák) expressziójához vezet, ez elősegíti a monocyták és T-helper lymphocyták migrációját az érfalba, ahol a monocyták makrofágokká alakulnak és az ún. scavenger-receptoraik révén felismerik és eliminálják az oxLDL-t, ezáltal lipiddel telt, habos sejtek keletkeznek (14). Ezek a sejtek és differenciált T-helper lymphocyták is citokineket bocsátanak ki, fokozzák az egyéb gyulladásos sejtek és a fibroblastok aktivitását, ezáltal az atheromatosus („lágysz”) plakk progresszióját. Ha az oxLDL képződése és akkumulációja folyamatos, akkor ez a krónikus gyulladásos folyamat aktiválja a simaizomsejtek proliferációját, így fibromuszkuláris („kemény”) plakk alakul ki (15).

Az atherosclerotikus plakk jelentősen szűkítheti az adott érszakasz átmérőjét és a pozíciójától függően okozhat panaszokat, például a coronariák szűkülete angina pectoris, az alsóvégtagi artériák szűkülete claudicatio intermitens. Azonban a plakk a nagyságán és az elhelyezkedésén kívül az instabilitásával is jellemezhető. Igazolták, hogy a lágysz plakkok rupturája felelős az akut coronaria események és a szívinfarktusok kialakulásának többségéért, ilyenkor egy coronaria plakkon kialakult repedésen a thrombocyták adhéziója és aktivációja révén vérlemezke-aggregátum képződik, mely teljesen elzárhatja az adott koszorú-érszakaszt, és ez a szívizom akut ischaemiás károsodásához vezethet (16). Különböző tanulmányok [pl. MARS (17), FATS (18)] igazolták, hogy az LDL-koleszterol szintjének jelentős csökkentése által elérhető az atherosclerotikus plakkok regressziója is, de az érlemeződés folyamata mindenképpen lassítható, ezáltal a kardiovaszkuláris kockázat is

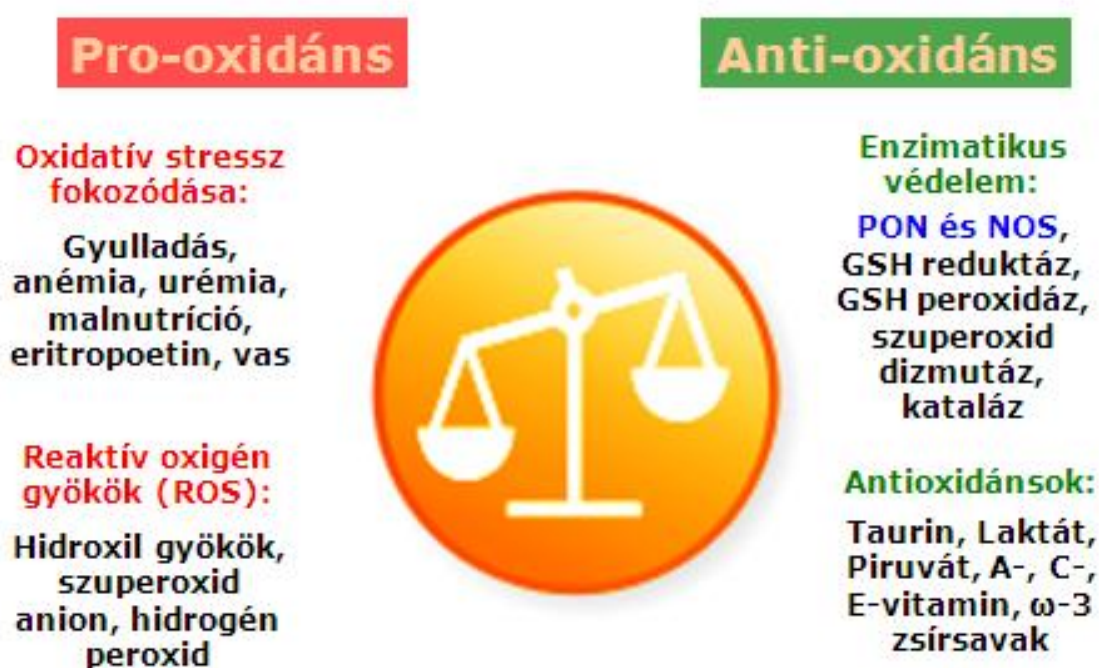
csökkenthető. A lipidcsökkentő sztatín-terápia képes stabilizálni a plakkokat, és a sztatínok ún. pleiotróp hatása révén javítják az endothel-diszfunkciót, csökkentik a thrombocyta aktivációt és aggregációt, gátolják a simaizomsejtek proliferációját, a leukocyták érfalhoz történő adhézióját, fokozzák az endothel nitrogén-monoxid termelését és az általános gyulladásos marker (high-sensitivity) C-reakív protein (hsCRP) proinflammatorikus hatását is képesek csökkenteni (16).

#### **1.4. A krónikus veseelégtelenség és a kardiovaszkuláris betegségek**

A kardiovaszkuláris betegségekből származó halálozás figyelemreméltóan nagyobb a CVE-ben szenvedő betegeknél az átlagpopulációhoz képest. Számos tanulmány igazolta, hogy a CVE betegeknél fokozódik az atherosclerosis és az ischaemiás szívbetegség kialakulása, emiatt jelentősen nő a kardiovaszkuláris halálozás is (19, 20, 21). A CVE önmagában kardiovaszkuláris rizikófaktornak tekintendő és csak részben magyarázható a morbiditás és a mortalitás fokozódása a konvencionális rizikótényezők egyidejű jelenlétével, mint a hypertensio, diabetes mellitus vagy a metabolikus szindróma. A CVE betegekben az érlemezés progresszióját az ún. nem-tradicionális rizikófaktorok, mint az alapbetegségből adódóan állandósult alacsony fokú szisztémás gyulladás és az oxidatív stressz, az endothelium diszfunkció, a hyperhomocysteinaemia és a dyslipidaemia jelentősebben befolyásolják a hagyományos tényezőkhez képest (22, 23, 24).

Az oxidatív stressz kialakulásában egyrészt prooxidáns tényezők jelenléte, másrészt a védő hatású antioxidáns tulajdonságú faktorok csökkent szintje játszik szerepet (**2. ábra**). A CVE-ben jelenlévő krónikus gyulladás, az anaemia és az alultápláltság fokozza az oxidatív stressz kialakulását, ez a reaktív oxigén gyökök (hidroxil gyökök, szuperoxid anion, hidrogén peroxid) képződésének emelkedéséhez vezet. Emellett az enzimatisz védelem hiánya

(paraoxonáz-1 (PON1) és nitrogén monoxid szintetáz (NOS), glutation (GSH) reduktáz, glutation (GSH) peroxidáz, szuperoxid dizmutáz, kataláz) és az antioxidánsok csökkent szintje (taurin, laktát, piruvát, A-, C-, E-vitamin,  $\omega$ -3 zsírsavak) a pro-oxidáns és anti-oxidáns egyensúly felborulását vonja magával (6, 25).



**2. ábra:** Az oxidatív stressz kiemelkedő jelentőséggel bír a krónikus veseelégtelenségben szenvedő betegekben a pro-oxidáns és anti-oxidáns tényezők egyensúlyának felbomlása által (6,25)

A CVE-ben jelentkező szekunder dyslipidaemia szintén fontos tényező a kardiovaszkuláris rizikó kialakításában, mind a lipoproteinek kvalitatív és kvantitatív változása, mind a lipid metabolizmus és transzportfolyamatok károsodása révén (26). A magyarországi és a nemzetközi ajánlások a krónikus vesebetegeknél - ugyanúgy, mint egyéb magas kardiovaszkuláris kockázattal jellemezhető betegcsoportoknál – igen szigorú elérendő

célértékeket fogalmaznak meg, 3,5 mmol/l alatti összkoleszterol és 1,8 mmol/l alatti LDL-C koncentrációkat. Az elmúlt években több kontrollált vizsgálat igazolta a sztatinok biztonságos alkalmazhatóságát még végstádiumú veseelégtelenség esetén is [NCEP, Adult Treatment Panel III (27)].

### **1.5. A krónikus veseelégtelenség és a hyperhomociszteinaemia**

Az elmúlt években megjelent irodalmi adatok alapján azt mondhatjuk, hogy a hyperhomociszteinaemia igazoltan a kardiovaszkuláris megbetegedések kialakulásának független rizikófaktora krónikus veseelégtelenségben, s különösen a hemodializált vesebetegekben (28). Veseelégtelenségben a homocisztein intracellularisan felszaporodva a fehérjeszintézist gátolja, inaktív fehérjék képződéséhez és felhalmozódásához vezet, ezáltal a sejtek apoptózisát indukálja, elősegíti a gyulladásos citokinek képződését és fokozza az oxidatív stresszt (29). A homocisztein oxidációja révén toxikus szabadgyökök keletkeznek, melyek az endothel diszfunkcióját okozzák, és ennek következtében a nitrogén-monoxid (NO) metabolizmus is károsodik. Az integritását elvesztett endothelium felszínén a thrombocyták is könnyen megtapadnak, ez thrombocyta-aggregációhoz vezethet.

✎ Csökken a metioninná történő átalakulás

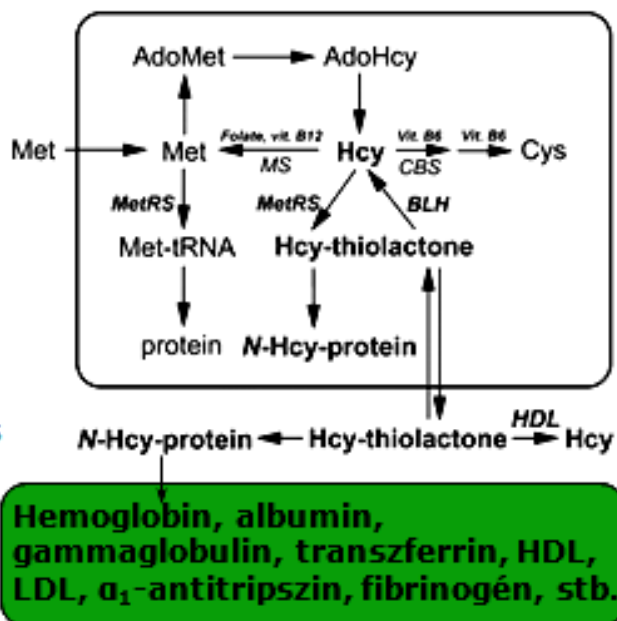
✎ **Vitaminhiány:** folsav, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>

**Következmények:**

### Direkt endothel károsodás

### Simaizomsejt proliferáció

### A lipidanyagcsere kedvezőtlen változása



**3. ábra:** Krónikus veseelégtelenségben a hyperhomociszteinaemia elősegíti az érlelmeszesedés progresszióját kórosan N-homociszteinná, ezáltal szerkezetileg károsodott enzimek és strukturféhéjék képződése révén (31)

Az atherosclerosis folyamatában az endothel diszfunkció mellett az LDL oxidációja, valamint LDL-homocisztein tiolakton képződése is fontos szerepet játszik (30). A homocisztein egy szulfur gyök megkötésével létrejövő aminosav, mely a metionin metabolizmusa során keletkezik. A homocisztein visszaalakul metioninná, és a folyamat során a metiltetrahydrofolsav tetra-hydrofolsavvá alakul (remetilációs ciklus) (**3. ábra**). Ez utóbbi folyamathoz szerin és glicin aminosavak szükségesek. A homocisztein metabolizmusa során B6- és B12-vitaminra, valamint folsavra van szükség, mint kofaktorok, ezek hiányában metabolikus zavar alakulhat ki (31). Krónikus veseelégtelenségben a homocisztein koncentrációja a normálérték közel négyszeresére nő (32, 33). Összefüggést lehet kimutatni a végstádiumú veseelégtelenségben kialakuló arteriosclerosis, a trombóziskészség növekedése és a hyperhomociszteinaemia között, sérül az endothel vasomotor regulációja és az

antitrombotikus funkciója is, növekszik az LDL oxidáció és a thrombocyta-aggregáció, csökken a thrombomodulin és a protein-C sejt felszíni expressziója, növekszik az érfal simaizom proliferációja (34).

## **1.6. A krónikus veseelégtelenség és a HDL-koleszterol**

A HDL többféleképpen képes gátolni az atherosclerosis progresszióját, legfontosabb hatása a reverz koleszterol transzport biztosítása, amely során a perifériás sejtekben felhalmozódott koleszterolt a májba szállítja és ezáltal a felesleges koleszterol az epével kiürülhet. Ez a folyamat a lecitin koleszterol acil transzferáz (LCAT) és a koleszterol észter transzfer protein (CETP) segítségével indirekten történik, a reverz koleszterol transzport direkt útja során a HDL2-partikula a máj SR-B1 receptorához kötődve átadja a koleszterol-észter tartalmát, ez a máj  $7\alpha$ -hidroxiláz enzimjének a segítségével epesavvá alakul át és az epével ürül (35). A HDL ezen kívül a lipoproteinek oxidációjának gátlásával is képes gátolni az érlemeződést. A HDL-hez kötött enzimek közül a PON1 paraoxonáz, az LCAT, a PAFAH (thrombocyta aktiváló faktor acetilhidroláz) és az apolipoprotein A1 antioxidáns hatását igazolták (36). A HDL-ben lévő E-vitamin is fontos szerepet játszik az atherosclerosis korai szakaszában jellemző endothel diszfunkció megelőzésében. S végül, de nem utolsó sorban a HDL-nek az érfalra kifejtett direkt ún. pleiotróp hatása is protektív tényezőként szerepel az atherosclerosis folyamatában, gátolja a monocyták kemotaxisát és adhézióját az endothel sejtekhez, megakadályozza az oxidált LDL-indukálta endothel diszfunkciót, fokozza az endothelsejtek és a simaizomsejtek proliferációját, gátolja a thrombocyta-aggregációt, fokozza a makrofágokból és a habos sejtekből történő koleszterol kiáramlást (35,36).

Veseelégtelenségben a HDL képződése zavart szenved, az LCAT csökkent és a CETP megnövekedett aktivitása miatt fokozódik a HDL eltávolítása a vérkeringésből. A

visszamaradó HDL-t elsősorban a koleszterol-észterben szegény, trigliceridben gazdag HDL3 szubfrakció alkotja, mely igazoltan csökkent antioxidáns aktivitással rendelkezik (24, 36), s valószínűleg az LDL-oxidációt gátló tulajdonsága is károsodik a hemodializált betegekben (37). A vesetranszplantált betegek vizsgálata során is jelentősen csökkent HDL-koleszterol koncentrációt találtak s a transzplantációt követően emelkedett a kardiovaszkuláris megbetegedések előfordulása is ebben a betegcsoportban (38).

### **1.7. A krónikus veseelégtelenség és a paraoxonáz (PON1) enzim**

A humán paraoxonáz-1 (PON1) enzim egy kalcium-dependens észteráz, mely aromás karboxilészterek, organofoszfátok hidrolízisét katalizálja (39). A humán paraoxonáz gén családnak 3 tagját ismerjük, a szérumban paraoxonáz aktivitásért döntő többségben a humán paraoxonáz-1 (PON1) enzim felelős. A PON1 gén a 7. kromoszómán helyezkedik el és az enzim 99%-ban HDL-hez kötött, ezen belül is a HDL3 szubfrakció nagyobb koncentrációban tartalmazza, mint a HDL2 szubfrakció (40). A humán paraoxonáz-2 és humán paraoxonáz-3 valószínűleg intracellulárisan fejti ki antioxidáns aktivitását (41). A szérumban PON1 enzim paraoxonáz aktivitásának mérése az antioxidáns hatás jellemzésére, míg az arilészteráz aktivitás az enzimfehérje mennyiségének kifejezésére alkalmas.

Az alacsony PON1 aktivitás elősegíti az érlemezés progresszióját krónikus veseelégtelenségben (42). A PON1 enzim elsődlegesen a lipoproteinekben képződő lipidperoxidok hidrolízise által gátolja az LDL oxidációját, így az oxidált LDL atherosclerotikus és proinflammatorikus hatásának csökkentése révén hozzájárul a HDL érlemezés gátló hatásához (43, 44).

A PON1 aktivitása csökken familiáris hypercholesterinaemiában (43) és az atherosclerosis kialakulása során (45), inzulinrezisztenciával jellemezhető metabolikus szindróma (46), kónikus autoimmun vagy infektív eredetű gyulladásos kórfolyamatok (47) és kifejezett atherogén diéta (48) esetén is. Csökkenti a PON1 enzim aktivitását a nagyobb mennyiségű alkoholfogyasztás, dohányzás (49), az organofoszfát tartalmú növényvédő szerek, harci gázok (50), az idős életkor és a postmenopausa (51). A mérsékelt alkoholfogyasztás, C- és E-vitamin bevitel, polifenolok és telítetlen zsírsavak fogyasztása emeli az enzimaktivitást (52, 53, 54). A magas BMI-vel jellemezhető elhízott betegekben csökkent paraoxonáz aktivitást találtak (55). A PON1 aktivitást fokozza bizonyos lipidcsökkentő gyógyszerek alkalmazása, egyes szerzők az atorvasztatin (56), mások a szimvasztatin kedvező hatását találták az enzimaktivitás szempontjából (57). Csökken az enzimaktivitás stroke-ot követően (58), perifériás artériás érbetegségben (45), májbetegségben és májcirrózisban (59), krónikus vírus hepatitisben (60), Alzheimer-szindrómában és vaszkuláris demenciában (61). A daganatos betegségekben az immunfolyamatok és a citosztatikumok tartós alkalmazása is csökkenti a PON1 enzimaktivitást (62).

Több tanulmány igazolta, hogy krónikus veseelégtelenségben - elsősorban a hemodializált, de a vese transzplantáción átesett betegeknél is – csökkent a szérum PON1 enzim aktivitása (63, 42, 64, 65) és összefüggés mutatható ki a kardiovaszkuláris mortalitás és a csökkent PON1 aktivitás között ebben a betegcsoportban. Az igazoltan coronaria betegségben szenvedő, hemodializált krónikus veseelégtelenekben még kifejezettebb, szignifikáns PON1 aktivitáscsökkenést találtak a hemodialízis kezelésben nem részesülő vesebetegekhez képest (66, 67).

A PON1 enzimnek két gyakori és több ritka génpolimorfizmusa ismert, mely az enzim koncentrációját és aktivitását befolyásolja. A PON1 gén 192. aminosav pontmutációja révén kialakuló polimorfizmusa (PON1-192) a Q és R izoenzimeket eredményezi attól függően,



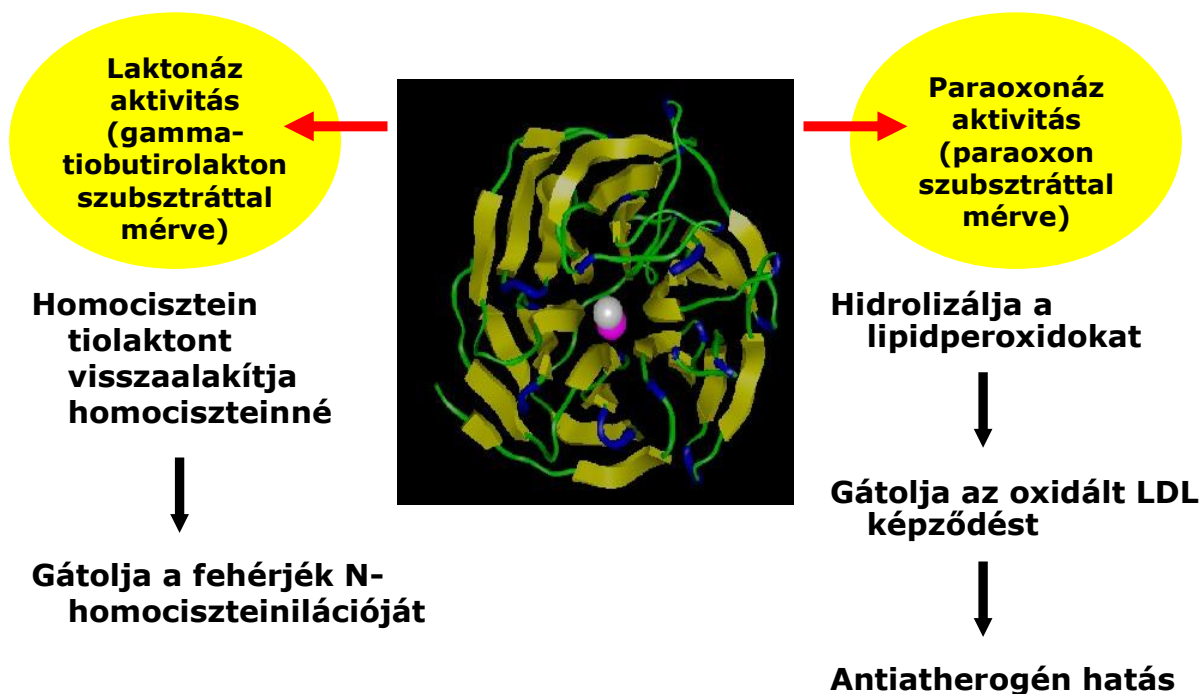
hogy a 192. pozícióban glutamin (Q) vagy arginin (R) található. A két izoenzim különböző mértékben képes gátolni az LDL oxidációját. Aviram és munkatársai a rézion-indukálta oxidált LDL képződését vizsgálták Q és R homozigóta egészséges egyénektől nyert szérumból és azt találták, hogy a PON1Q izoenzim 58-61 %-ban csökkentette az oxidált LDL kialakulását, míg a PON1R csak 38-46 %-ban gátolta az oxidációt, az adott izoenzim koncentrációjától függően (56). Mindkét izoenzim képes gátolni a foszfolipidek és a koleszterolészterek oxidációját is. A PON1Q elsősorban az LDL oxidációjának a kezdeti fázisát gátolta, míg a PON1R az LDL-oxidáció kezdete után 1 órával volt a leghatékonyabb, ez arra utal, hogy valószínűleg a két izoenzim szubsztrátspecifitása különbözik. Amíg a PON1Q enzimaktivitása a LDL-oxidáció kezdete után 4 órával 28 %-kal csökkent, addig a PON1R aktivitása 55 %-kal. Vizsgálták a HDL oxidációját is, a PON1Q homozigótáknál a HDL antioxidáns kapacitásának mintegy 57 %-át, PON1QR heterozigótáknál a 25 %-át és PON1R homozigótáknál mindössze 1 %-át tartotta meg a rézion-indukált oxidatív stressz hatására (56).

A PON1 enzim aktivitását kisebb mértékben, de az 55. aminosav polimorfizmusa (PON1-55) is meghatározza. Ha az 55. pozícióba leucin található, akkor L, ha metionin, akkor M allélről beszélünk. Szeparált HDL partikulák rézzel történt inkubációt követően a PON1-55LL és PON1-55-LM genotípus esetén a PON1 aktivitását a kiindulási érték 22 %-ának, illetve 30 %-ának találták, míg a PON1-55-MM genotípus esetén 50 % körüli értéket igazoltak. A PON1-192 és a PON1-55 gén polimorfizmusok a PON1 aktivitás fő meghatározói, s mindkét polimorfizmusról igazolódott, hogy a korai érrelmeszedéssel kapcsolatos betegségek független rizikófaktorai (56, 68, 69).

A mindennapi gyakorlatban a PON1 kettős szubsztrát módszert alkalmazzuk a QR-genotípusok allélgyakoriság becslésére, sőt azt találták, hogy az enzim AB-fenotípusa jobban előrejelezte a kardiovaszkuláris eseményeket, mint a QR-genotípus (70). Sem a korábbi

vizsgálataink, sem az irodalmi adatok nem mutattak különbséget a QR-genotípusban és AB-fenotípusban a hemodializált és vesetranszplantált betegeknél (70, 71, 72, 73). Egészségeseknél 7,2 %-os eltérést találtak a PON1 genotípusa és fenotípusa között (74).

Újabb irodalmi adatok arra utalnak, hogy a PON1 enzim a paraoxonáz aktivitás mellett laktonáz aktivitással is rendelkezik, ezáltal laktonok, tiolaktonok és ciklikus karbonát-észterek hidrolízisére is képes (4. ábra). A szervezetben a homocisztein oxidációja révén toxikus szabadgyökök (többek között homocisztein-tiolakton) keletkeznek, ezek endothel diszfunkcióhoz vezetnek, melynek következtében a nitrogén-monoxid (NO) metabolizmus is károsodik. Az integritását elvesztett endothelium felszínén a thrombocyták is könnyen megtapadnak, ez thrombocytá-aggregációhoz vezethet (75).



**4. ábra:** A paraoxonáz 1 (PON1) enzim paraoxonáz és homocisztein tiolaktonáz aktivitással is rendelkezik, melyeknek károsodása játszik krónikus veseelégtelenségben fontos szerepet a lipidanyagcsere kedvezőtlen változásában (75)

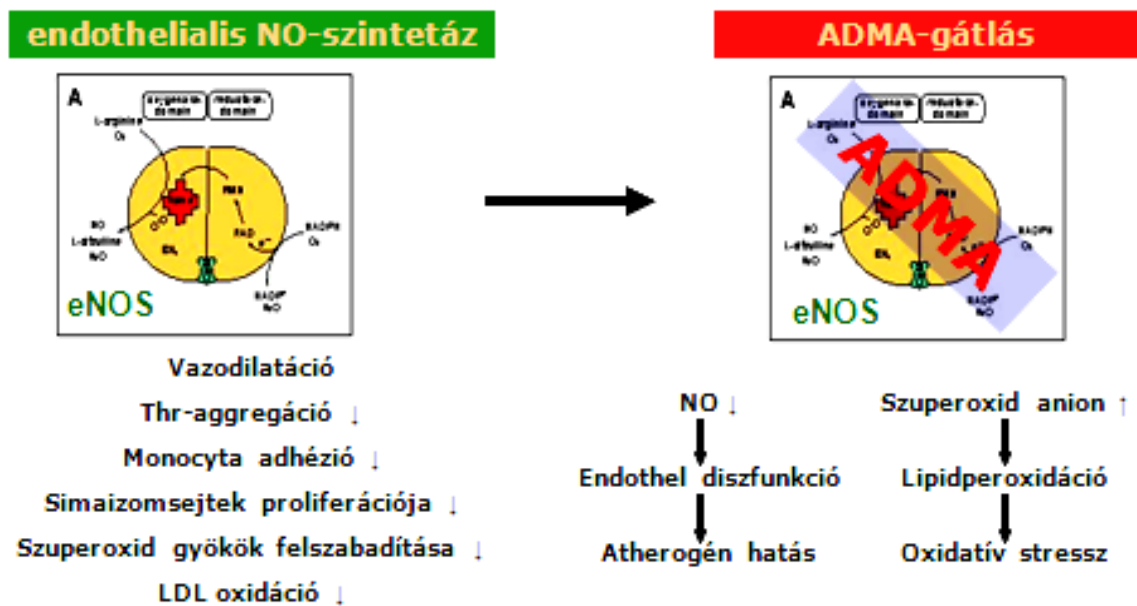
A PON1 enzim laktonáz aktivitásának egyik endogén szubsztrája a homocisztein tiolakton (HTL), ezáltal bizonyos korábbi irodalmi hivatkozások a PON1 enzim laktonáz aktivitására, mint homocisztein tiolaktonáz hivatkoznak (75, 76, 77), de mostanra egyértelművé vált, hogy nem csak a HTL az egyetlen endogén szubsztrát, melyet a PON1 enzim laktonáz aktivitása bontani képes (78). Viszont a HTL széles körben tanulmányozott molekula a PON1 laktonáz aktivitás jellemzésére. A HTL a fehérje degradáció mellékterméke, mely kis mennyiségben endogén módon is termelődik, s főleg a vesén keresztül választódik ki. Krónikus veseelégtelenségben a HTL szintje jelentősen emelkedik a plazmában és a HTL a fehérjék (köztük a LDL-hez kötődő lipoproteinek) lizin-aminosav oldalláncát módosítják, ezáltal denaturálni képes az LDL-t. Jakubowski és munkatársai több vizsgálatukban igazolták, hogy az atherogenezis során az endothel diszfunkció mellett az LDL kifejezett oxidációja, valamint LDL-homocisztein tiolakton képződése is részt vesz (76, 77, 79). A homociszteinilizáció kevésbé ellenállóvá teszi a HDL-t az oxidatív stresszel szemben, a PON1 enzim (főleg a paraoxonáz aktivitáshoz kötött) antioxidáns kapacitása is csökken s a HTL toxicitása is fokozódik (80), különösen veseelégtelen betegekben. Ezek a megfigyelések arra utalnak, hogy a PON1 enzim laktonáz aktivitása is fontos szerepet játszik az érlemezés gátlásában. Az irodalmi háttérrel áttekintve, szignifikánsan magasabb HTL-nal mért PON1 laktonáz aktivitást találtak akut coronaria szindróma esetén (81) és krónikus ischaemiás szívbetegségben szenvedő betegekben (82), inverz korrelációt írtak le a PON1 paraoxonáz/laktonáz aktivitása és a homocisztein szint (83), illetve az kardiovaszkuláris megbetegedés súlyossága között 2-es típusú diabetes mellitus esetén (84). Továbbá azt találták, hogy a PON1 enzim HTL-hez kötődő hidrolitikus aktivitása és a paraoxonnal mért paraoxonáz aktivitása szorosan korrelált egymással és a PON1-192-RR és a PON1-55-LL genotípusokkal jellemezhető, tehát magas paraoxonáz aktivitással rendelkező egyéneknél szintén magas laktonáz aktivitást is találtak (85). Fontos megjegyezni, hogy míg a szérumban PON1 paraoxonáz és arileszteráz aktivitásai a

PON1 192 polimorfizmusától függték, addig ez a homocisztein tiolaktonnal mért PON1 laktonáz aktivitást nem befolyásolta (86).

## **1.8. A krónikus veseelégtelenség és az aszimmetrikus dimetilarginin**

A krónikus veseelégtelenségben, mint egy felgyorsult érlemezsedéssel és thrombosis hajlammal jellemezhető komplex klinikai állapotban jelentősen módosul a nitrogén monoxid (NO) endothel által történő termelődési mechanizmusa, s az ezzel összefüggő biokémiai változások is megfelelő markerként szolgálhatnak a kardiovaszkuláris morbiditás jellemzésére ebben a betegcsoportban (87). Az aszimmetrikus dimetilarginin (ADMA) endogén inhibitora a nitrogén monoxid szintáznak (NOS). Az ADMA-t a protein metiltranszferáz enzim termeli és elsősorban dimetilarginine dimetilaminohidroláz enzim metabolizálja. Korábbi vizsgálatok azt mutatták, hogy az ADMA szintje emelkedik krónikus veseelégtelenségben, és ez szerepet játszik az atherosclerosis folyamatában (88). Más szerzők pozitív korrelációt mutattak ki az emelkedett ADMA szint és a koszorúsér-eredetű betegségek között (89), illetve az ADMA és a homocisztein koncentrációja között találtak összefüggést a megnövekedett kardiovaszkuláris rizikó szempontjából a végstádiumú veseelégtelenségben (90). Az is igazolódott, hogy a csökkent NO produkció és az endotheliális diszfunkció együttesen fokozza az érlemezsedés progresszióját hemodializált veseelégtelenekben (91).

Az L-arginin a nitrogén monoxid (NO) szintézisének prekürzora, az NO szintáz (NOS) enzim ennek a felhasználásával állít elő NO-t, mely potenciális vazodilatátor, protektív szereppel bír az endoteliumra és antiatherogén hatású (**5. ábra**). Az szervezet által termelt és felhalmozódó ADMA koncentrációtól függően képes gátolni a NOS-t, ezáltal befolyásolja az endotheliális diszfunkciót és az érlemezsedést (92).



**5. ábra:** A metilált fehérjék proteolízise során keletkező aszimmetrikus dimetilarginin (ADMA) gátolja a nitrogén-monoxid szintetáz aktivitását, ezáltal proatherogén hatást fejt ki (92)

Az irodalmi adatok alapján azt látjuk, hogy homociszteint és az ADMA-t egyre inkább tartják potenciális rizikófaktoroknak a felgyorsult érrelmeszesedéssel jellemezhető kórfolyamatokban, így CVE-ben is a metabolizmusuk során keletkező szubsztrátok révén. Emelkedett ADMA és homocisztein szintet találtak agyi infarktuson átesett idős betegeknél (93) és generalizált érrelmeszesedésben (94). A hemodializált veseelégtelenekben mind a magas homocisztein, mind az emelkedett ADMA szint fokozott érrelmeszesedéssel és megnövekedett kardiovaszkuláris mortalitással jár (95). Azt is igazolták, hogy az érrelmeszesedés jellemzésére alkalmas centrális artériás vérnyomás hullámforma (Central Arterial Pressure Waveform – CAPW) mérése során is szoros korrelációt találtak az ADMA koncentrációjával hemodializált betegeken (96). A homocisztein az esszenciális metionin aminosav metabolizmusa során keletkezik, és metil donorként szolgál az arginin metilációja során. A szervezetben mért koncentrációja az S-adenozilmetionin metiltranszferáz (SAMT) és a protein arginin

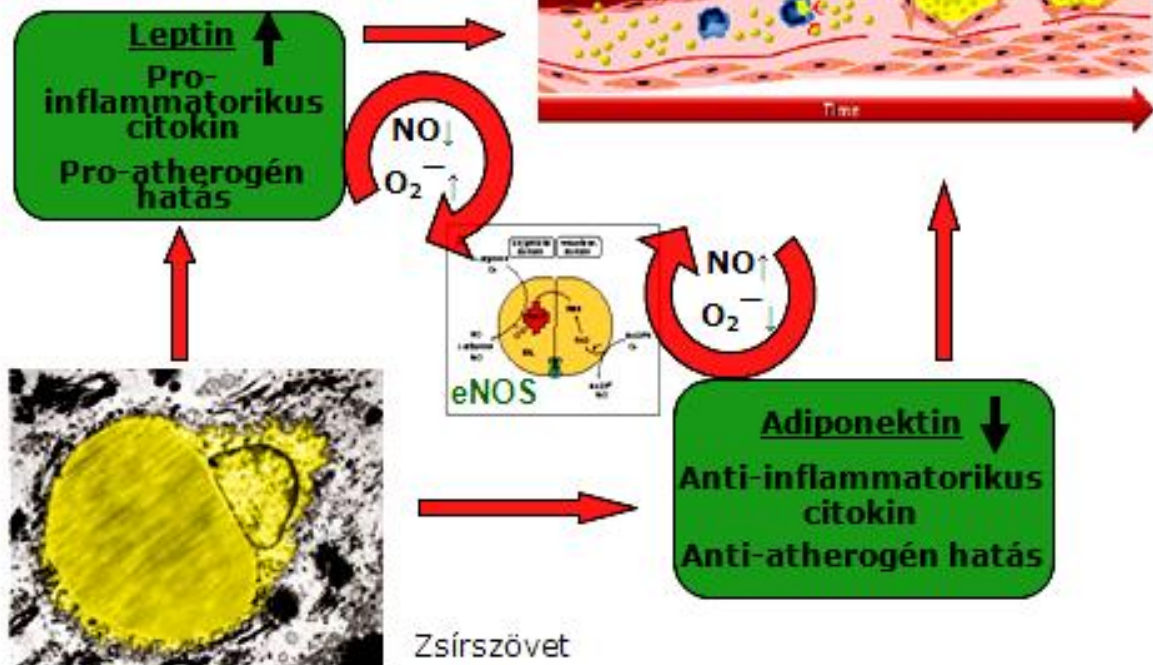
metiltranszferázok (PRMTs) enzimek kinetikai sajátosságaitól függ, melyek egyaránt részt vesznek a homocisztein és az ADMA szintézise során egyaránt. Ezáltal a homocisztein és az ADMA metabolizmusa kölcsönösen egymással kapcsolódik. Néhány szerző azt feltételezi, hogy a magas ADMA koncentráció miatt csökken a NO termelődés az endotheliális sejtekben, ezáltal elégtelenné válik a NO-mediált és endothélium-dependens vazodilatáció, s ilyen módon függ össze a hyperhomocisteinaemia a fokozott érrelmeszesedéssel (97, 98), de ez a terület még jelenleg is elég ellentmondásos, más szerzők ezt a feltételezést nem tudták megerősíteni (99). SDMA (szimmetrikus dimetilarginin), az ADMA szimmetrikus sztereoizomer formája szintén a metilált arginin proteolízise során keletkezik, mindkét molekula a vesén keresztül választódik ki. Az SDMA nem metabolizálódik hidrolitikus degradációval a dimetilarginin dimetilaminohidroláz (DDAH) révén, mely az ADMA katabolizmusáért felelős a szervezetben (100). A magas ADMA koncentráció független rizikófaktor az endotheliális diszfunkció szempontjából (97) és korrelációt mutat a magas vérnyomással, a 2-es típusú diabetes mellitussal, a hypercholesterinaemiával, a krónikus veseelégtelenséggel és a generalizált érrelmeszesedéssel mind állatmodellekben, mind humán mintákban (97, 107, 102). Az ADMA emelkedett koncentrációja pozitívan korrelál az érrelmeszesedést jellemző carotis artéria intima-media vastagsággal és prediktív értékkel bír az akut kardiovaszkuláris események szempontjából (103, 104). Az angiotenzin-konvertáló enzim inhibitorok, angiotenzin-II receptor antagonisták, az E-vitamin és valószínűleg az ösztrogén-hormonpótlás csökkenti a plazma ADMA koncentrációját, ezáltal kedvező hatást fejt ki az NO szintézisre és az endotheliális funkcióra (105, 106). Érdekes megfigyelés állatmodellen, hogy a vese mikroereinek endothélium-dependens vazodilatációja károsodik krónikus veseelégtelenségben, és ez inkább a plazma ADMA szintjével és NO produkciójával áll szoros kapcsolatban, mint a homocisztein koncentrációval (107).

## 1.9. A krónikus veseelégtelenség és az adipokinek

Mivel a tradicionális rizikófaktorok nem tudják magyarázni a krónikus veseelégtelenségben kialakuló igen magas kardiovaszkuláris morbiditást és mortalitást, így az utóbbi években az elhízással összefüggő inzulin rezisztencia, az oxidatív stressz és az endotheliális diszfunkció széles körben vizsgált, úgynevezett nem-tradicionális rizikófaktorokként kerültek a figyelem középpontjába (108). Ezek közül is kiemelkedő fontosságú a hemodializált és a vesetranszplantált betegek körében eddig még kevésbé vizsgált, a zsírszövet által termelt leptin és adiponektin hormonok szerepe az érlemezés folyamatában.

A leptin egy 16-kD molekulású peptidhormon, melyet az adipocyta termelnek, így szoros összefüggés figyelhető meg a test zsírtömege és szérumban lévő leptin szintje között. A táplálékfelvételben, az energia felhasználásban és a teljes test energiaegyensúlyában játszik fontos szerepet és feltehetően a hypothalamus receptorain keresztül fejt ki negatív visszacsatoló hormonhatást. A leptin hatása a szervezet energiaháztartásának szabályozása, befolyásolja az éhségérzetet, a tápanyagfelvételt és az abból nyert energia hasznosulását. Ezen kívül a pancreas B-sejtek inzulinszekréciójára, a vázizmok energiatermelésére és a hemopoiesisre is hatással van, és metabolikus szignálként szolgál a reproduktív szerveknek a szervezet tápláltsági állapotáról (109). A hyperleptinaemia szoros összefüggésben áll a test zsírtömegével, sem a zsírszövet elhelyezkedése (viscerális vagy genitofemorális jellegű elhízás), sem az életkor vagy etnikum, sem a szérumban lévő cukorszint vagy a manifest diabetes mellitus nem befolyásolja a szérumban lévő koncentrációját. Függetlenül az elhízástól, a nőkben magasabb a szintje, mint a férfiakban (110). Kimutatták, hogy a hyperleptinaemia az NO termelés zavarát okozza, ezáltal járul hozzá az endotheliális diszfunkcióhoz az elhízott betegekben (111) (**6. ábra**).

Az érlelmeszesedés progressziója



**6. ábra:** A zsír szövet által termelt adipokinek a nitrogén-monoxid szintetáz működésének befolyásolásával szerepet játszanak az atherosclerosis folyamatában (111)

Az előrehaladott veseelégtelenségben szenvedő és a hemodializált betegekben észlelt hyperleptinaemia szorosan korrelált a hsCRP koncentrációjával, mely ismételten a krónikus gyulladás fontosságára hívja fel a figyelmet CVE-ben (112). Habár bizonyos szerzők magas leptin szint mellett csökkent PON1 paraoxonáz aktivitást találtak (113), egy korábbi vizsgálatunk igazolta, hogy nem a hyperleptinaemia felelős a csökkent PON1 paraoxonáz aktivitásért a hemodializált betegekben (114).

Az adiponektin egy 2224 aminosavból álló hormon, amelyet szinte kizárólag az adipocyták termelnek. Központi szerepet játszik a máj és a vázizom zsírsav- és szénhidrát-anyagcsere szabályozásában, fokozza a szabad zsírsavak felvételét a myocytákba és a béta-oxidációt a sejtekben, gátolja a zsírsavtermelést és a glukoneogenezist a hepatocytákban, elősegíti a glükóz felvételt és felhasználást a májban és az izomszövetben (115). Az alacsony



adiponektin szint szorosan összefügg az elhízással, az inzulin rezisztenciával, a 2-es típusú diabetes mellitussal és a kardiovaszkuláris megbetegedésekkel (117). Az adiponektin koncentrációja inverz összefüggést mutat a zsírszövet tömegével és az inzulin rezisztenciával, ugyanakkor emelkedik a krónikus veseelégtelenségben, valószínűleg a csökkent renális kiválasztódás következtében (112, 118). Az adiponektin és a leptin koncentrációja párhuzamosan emelkedik a vese clearance csökkenésével, így érthető módon magasabbnak találták a krónikus veseelégtelenségben szenvedő betegekben, kifejezetten a hemodializáltakban, és azt figyelték meg, hogy a sikeres vesetranszplantációt követően csökkent a szérum szintjük (119, 120, 121). Korábbi vizsgálataink kimutatták, hogy a PON1 paraoxonáz aktivitása pozitívan korrelál a HDL-koleszterol és az adiponektin koncentrációjával és negatívan a testtömeg indexszel (BMI) illetve a derék körfogattal (122). Az adiponektin az endothelium felszíni adhézis molekulák expresszióját befolyásolja, és potenciális anti-inflammatorikus és anti-atherogén tulajdonságokkal rendelkezik (123). Irodalmi adatok arra utalnak, hogy az adiponektin koncentrációja jobban jellemzi a CVE-ben megfigyelhető generalizált kisfokú krónikus gyulladást, mint a hsCRP, az interleukin-6 (IL-6) és a tumor necrosis faktor-alfa (TNF-alfa) a vese transzplantáción átesett diabeteses veseelégtelen betegekben (124).

### **1.10. A krónikus veseelégtelenség és az alultápláltság**

A legtöbb veseelégtelen betegnél megtalálható valamilyen szintű fehérje- és kalóriamalnutrició, és az ebből adódó aminosav- és energiahány általánosan előfordul ebben a betegcsoportban. Az irodalmi adatok arra utalnak, hogy az alultápláltság és a generalizált kisfokú krónikus gyulladás markerei (hsCRP, interleukin-6, TNF-alfa) szoros összefüggésben állnak a szív- és érrendszeri betegségek kialakulásával (87) és az alacsony albumin szint

összefüggést mutatott a krónikus veseelégtelenségben szenvedő betegek halálozásával, különösen a hemodializáltak körében (125). Kimutatták, hogy az alultápláltság az ún. malnutríció-inflammáció-atherosclerosis (MIA) komplex részeként megbízható előrejelzője lehet a veseelégtelen betegek kardiovaszkuláris mortalitásának (126, 127).

Az alacsony albumin koncentráció összefügg az alultápláltsággal, viszont nem megbízható marker a malnutríció és az azzal összefüggő kardiovaszkuláris mortalitás jellemzésére, hiszen más tényezők is befolyásolják a plazmaszintjét, különösen a krónikus veseelégtelenségben jelenlévő állandó krónikus gyulladás és a különböző gyulladásos markerek is alacsony albuminkoncentrációval járnak. Az akut fázis fehérjék közül kifejezetten a hsCRP emelkedett koncentrációja és az alultáplált veseelégtelenek kardiovaszkuláris mortalitása között találtak összefüggést a különböző tanulmányokban (128, 129, 130), míg más szerzők a lipoprotein(a) – LDL-ből és egy ehhez kapcsolódó hidrofíl glikoproteinből, az apoprotein-A-ból (apoA)-ból felépülő lipoprotein – magasabb szintjét találták alkalmasnak az alultápláltság jellemzésére (131). A korábban használt antropometriai jellemzőkről, a laboratóriumi markerek közül az albuminról és a szérum koleszterol koncentrációjáról az utóbbi időben igazolódott, hogy nem alkalmasak az alultápláltság megbízható jellemzésére CVE-ben, és egyelőre nem is áll rendelkezésünkre megbízható és elfogadott marker (132).

Érdekes és izgalmas megfigyelés, hogy korábbi vizsgálatok az elhízott hemodializált betegek alacsonyabb mortalitását találták az alultápláltakhoz képest, mely azt sugallja, hogy a zsírszövet jelenléte az alacsony testtömeghez képest védő szereppel bírna CVE-ben, és ennek hátterében az zsírsejtek által termelt adipokinek, s ezek közül kifejezetten az atherosclerosis patomechanizmusát is befolyásoló adiponektin protektív szerepét is feltételezik (133, 134). Ez az ellentmondásos megfigyelés „obezitás paradoxon” vagy „reverz epidemiológia” néven ismert az irodalomban és a nagyobb testzsír mennyiségileg kedvező hatását feltételezi a kardiovaszkuláris mortalitással szemben (135). Több lehetséges magyarázat létezhet erre az

jelenségre, egyes szerzők szerint nem a kardiovaszkuláris morbiditás csökken, hanem a fatális kimenetelű szív- és érrendszeri betegségek száma növekszik meg az alultáplált hemodializált betegek esetén (133). Mások azt találták, hogy csökkent energia- és fehérjebevitel, az alacsonyabb testtömeg a vesepótló kezelés kezdetén növeli meg a halálozást (136). Más lehetséges magyarázat lehet, hogy a csökkent tápanyagraktárral rendelkező hemodializált betegek esetén a krónikus gyulladásos folyamatok, a csökkent protein-kalória bevitel, a krónikus acidosis és az állandó hospitalizációs igény miatt növekszik meg a korai elhalálozások száma (137). Továbbá a krónikus gyulladással összefüggően emelkedett TNF-alfa szintet találtak a hemodializált veseelégtelen betegekben, mely elősegíti a szívizomsejtek apoptózisát és negatív inotróp hatást fejt ki. Azonban igazolták, hogy a zsírszövet szolubilis TNF-alfa receptort termel, mely a citokin megkötése révén mérsékeli a TNF-alfa kardiotoxikus hatását (138).

A „reverz epidemiológia” hipotetikus és ellentmondásos területe a hemodializált betegek vizsgálatának, irodalmi adatok alapján azt mondhatjuk, hogy az izomtömegvesztéssel járó protein-energia malnutríció a krónikus veseelégtelenségben szenvedő betegek széles csoportját érinti és meghatározó a kardiovaszkuláris mortalitás szempontjából a hemodializált, de ugyanakkor a folyamatos peritoneális dialízisben részesülő betegeknél is (139).

## 2. Célkitűzések

- a. Célkitűzésünk volt, hogy meghatározzuk a PON1 paraoxonáz és laktonáz aktivitásokat a hemodializált és transzplantált betegekben.
- b. Továbbá összefüggéseket keressünk a PON1 laktonáz aktivitás és számos egyéb, a krónikus veseelégtelenségben kiemelkedő fontosságú kardiovaszkuláris rizikófaktor között.
- c. Munkahipotézisünk alapján a PON1 laktonáz aktivitása különbözik az érrelmeszesedés szempontjából hátrányosabb helyzetű hemodializált betegekben a vesetranszplantáltakhoz képest. Ezenkívül az oxidatív stressz markereként szolgáló ADMA emelkedett szintjét feltételeztük alacsonyabb PON1 paraoxonáz aktivitással együtt a vizsgált krónikus veseelégtelenségben szenvedő betegeinknél.
- d. Korábbi eredményeink alapján azt is feltételezzük, hogy a PON1 paraoxonáz és laktonáz aktivitások a tápláltsági állapottól függően is változhatnak krónikus veseelégtelenségben, és ez befolyásolhatja az atherosclerosis progresszióját a CVE betegekben.
- e. További célkitűzésünk, hogy összehasonlítsuk a PON1 paraoxonáz és laktonáz aktivitásokat, az ADMA, az adiponektin és a leptin koncentrációkat a tápláltsági állapot függvényében és ezek között összefüggéseket keressünk az elhízott és az alultáplált hemodializált veseelégtelen betegekben.

### **3. Betegek és módszerek**

#### **3.1. Betegek kiválasztása**

A laktonáz aktivitás méréséhez 78 vesetranszplantált, 108 hemodializált beteg és 63 egészséges kontroll személyt vontunk be. A tápláltsági állapot hatásának vizsgálatához 114 hemodializált beteg klinikai adatait és vérmintákból meghatározott enzimértékeit hasonlítottuk össze. A vizsgálatba 2007. január 1. és 2010. december 31. között a DEOEC Extracorporális Szervpotló Centrumban, a Belgyógyászati Intézet Nephrológia Szakrendelésén és a Sebészeti Intézet Transzplantációs Szakrendelésén megjelent betegek közül választottuk be az alkalmas személyeket.

A transzplantált betegek kombinált immunszuppresszív terápiában részesültek (cyclosporin vagy tacrolimus, azathioprin vagy mycophenolat mofetil és methylprednisolon) a cadaverből származó vesetranszplantációt követően. A hemodializált betegek 4 órás dialízis kezelésben részesültek heti 3 alkalommal. A betegek optimális száraz testtömegét bioimpedancia vizsgálattal (BIODYNAMICS 310) határoztuk meg, majd az infiltrátum mennyiségét ez alapján számoltuk ki.

A vizsgálatokból kizártuk a krónikus alkoholfogyasztókat, a bármilyen eredetű májbetegségben szenvedőket, a 6 hónapon belül szívinfarktust elszenvedő betegeket (a hemodializáltak 36-38%-a és a transzplantáltak 25%-ának volt a kórelőzményben angina pectoris vagy ischaemiás szívbetegség), endokrin betegségben szenvedőket (pajzsmirigy és mellékpajzsmirigy betegségek, hypophysis vagy mellékvese eredetű megbetegedések, stb.), a terheseket vagy szoptató anyákat, a lipidcsökkentő terápiában részesülőket és a rendszeresen dohányzókat.

### **3.2. Vérvétel és módszerek**

12 óra éhezést követően 10 ml vénás vért vettünk reggel 7:30 és 8:00 között a kontroll és a transzplantált betegeinktől, illetve a hemodializáltaktól a dialízis napján, azt megelőzően. A mintákból a Debreceni Egyetem Laboratóriumi Medicina Intézetében standard laboratóriumi módszerekkel határozták meg a koleszterol, triglicerid, HDL-C, LDL-C, glükóz, hsCRP, kreatinin, albumin szinteket. A DEOEC Belgyógyászati Intézet I. sz. Belklinika Kutató Laboratóriumában fotometriás módszerrel határoztuk meg a szérumban PON1 paraoxonáz és arilészteráz aktivitást. Az adiponektin, leptin, ADMA, homocisztein, PON1 laktonáz aktivitást ELISA módszerrel határoztuk meg. A méréseket friss szérumban felhasználásával végeztük, a PON1 paraoxonáz aktivitás meghatározása előtt a szérumban -70 C-on tároltuk.

### **3.3. A lipidparaméterek mérése**

A szérumban összkoleszterol- és triglicerid-koncentráció meghatározása enzimátikus, kolorimetriás módszerrel, a HDL-C esetén homogén, enzimátikus módszerrel (HDL plus 3<sup>rd</sup> generation) történt Modular P-800 generátoron (Roche/Hitachi). Az LDL-C arányát a Friedewald-egyenlettel számoltuk ki (140).

### 3.4. A PON1 paraoxonáz és arilészteráz aktivitások meghatározása

A PON1 paraoxonáz aktivitás meghatározásakor szubsztrátként paraoxont (O,O-dietil-O-p-nitrofenilfoszfát, Sigma) alkalmaztunk és spektrofotometriás módszerrel meghatároztuk a képződő 4-nitrofenol mennyiségét. 50  $\mu$ l szérumot 1 ml Tris/HCl pufferben oldva (100 mmol/l, pH=8.0), ami 2 mmol/l  $\text{CaCl}_2$ -t és 5,5 mmol/l paraoxont tartalmazott. Az abszorbanciamérést 412 nm-en végeztük, 25 C-on, Hewlett-Packard 8453 UV-visible spektrofotométerrel. Az enzimaktivitást  $17.100 \text{ mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$  moláris extinkciós koefficiens segítségével számoltuk. A PON1 paraoxonáz aktivitást U/ml-ben adtam meg. Egységnyi (1 unit) PON1 paraoxonáz aktivitásnak a fent leírt metódus alapján 1 perc alatt 1  $\mu$ mol 4-nitrofenol keletkezése felel meg (141).

A PON1 arilészteráz aktivitást meghatározása során 1 mmol/l fenilacetátot (Sigma) és 20 mmol/l Tris/HCL puffert (pH=8,0) tartalmazó oldatot használtunk, szérum hozzáadását követően 270 nm-en végeztük az adszorbanciamérést. Szubsztrátvak segítségével korrigáltuk a fenilacetát spontán hidrolízisét. Az enzimaktivitást  $1.310 \text{ mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$  moláris extinkciós koefficiens segítségével számoltuk. A PON1 arilészteráz aktivitást U/ml-ben fejeztem ki. Egységnyi (1 unit) PON1 arilészteráz aktivitásnak a fenti körülmények között percenként 1  $\mu$ mol fenilacetát bomlása felel meg (141).

### 3.5. A PON1 laktonáz aktivitás meghatározása

A PON1 laktonáz aktivitás meghatározására kereskedelmi fogalomban kapható „HTLase activity assay kit” (Alfresa Auto HTLase; Alfresa Pharma Corporation, Japan) segítségével történt, thiobutirolakton szubsztrátot használtunk. A módszer  $\gamma$ -tiobutirolaktont használ fel, mint szubsztrátot és az Ellman-módszerrel vizsgáltuk a szabad szulfhidril-csoportok

felszaporodását 5,5-dithiobis(2- nitrobenzoic sav)-val való kötődésük révén (142). Az intra-assay CV (Coefficients of Variability) kevesebb, mint 6% volt.

### **3.6. Az ADMA koncentráció mérése**

A hemodializált és transzplantált betegek szérum ADMA koncentrációját kereskedelmi forgalomban kapható ELISA kit (ADMA- ELISA, DLD Diagnostika GmbH, Hamburg, Germany) segítségével vizsgáltuk. A minták ADMA koncentrációját kompetitív enzim immunoassay-vel mértük, az intra-assay CV: 4.5 % -7.5%, és inter-assay CV: 8.3%-10.3% között volt. A vizsgálatot a gyártó előírásainak megfelelően végeztem.

### **3.7. Az adiponektin és leptin koncentrációk meghatározása**

A hemodializált és transzplantált betegek szérum adiponektin és leptin koncentrációját kereskedelmi forgalomban kapható ELISA kitek segítségével mértük (Quantikine Human Adiponectin and Quantikine Human Leptin Immunoassays, R&D Systems, Minneapolis, USA). Az adiponectin assay kvantitatív szendvics enzim immunoassay technikával vitelezhető ki, az intra-assay CV a gyártó leírása alapján 2.5-4.7% között, az inter-assay CV 6.8-6.9% között változott. A leptin koncentrációk mérésének megbízhatóságára jellemző intra-assay CV 3.0-3.3% között, az inter-assay CV 3.5-5.4% között volt.

### **3.8. A fenotípus-megoszlás és a genotípusok meghatározása**

A PON1 fenotípus-megoszlását kettős szubsztrát módszerrel végeztük. Az enzimet kódoló gén PON1-192QR polimorfizmusa szerint két alloenzim képződhet: az alacsonyabb aktivitású



A- és a magasabb aktivitású B-alloenzim. Az enzim 1 mmol/l NaCl jelenlétében mért (ún. só-stimulálta) paraoxonáz aktivitás és az PON1 arilészteráz aktivitás arányát képeztük, s ez alapján a vizsgált mintákat három csoportba soroltuk (AA-, AB- és BB-fenotípus), a következő arányértékek szerint: AA-fenotípusnál az arány  $<3.0$ , AB-fenotípusnál  $3.0-7.0$  között és a BB-fenotípusnál  $>7.0$  az arány. Az AA alacsony, az AB közepes és a BB magas enzimaktivitásnak felel meg (141).

A PON1-55 és a PON1-192 polimorfizmusok meghatározására fluoreszcens rezonancia-energiatranszfert (FRET) és olvadáspont-analízist kombináló módszert (Light Cycler Real-Time Technology) alkalmaztunk (143). A PON1 gén PON1-55 és PON1-192 polimorfizmusait közrefogó génszakaszok 151- és 138 bp méretű amplikonokat eredményező amplifikációját végeztük (DEOEC Népegészségügyi Iskola). A PON1-55 genotípezálására használt próbát 5'-LC Red 640 festékkel, míg a PON1-192-höz használt próbát LC Red 704 fluorofórral jelöltük meg. Mindkét próbapár upstream, egymásól 2 nukleotid távolságra helyezkedik el. Mindkét primert és a fluoreszcensen jelölt próbákat a TIB Molbiol Co. készítette. A polimeráz-láncreakciót (PCR) és az olvadáspont-analízist 20  $\mu$ l-es üvegapillárisokban végeztük (Roche). Az olvadáspont-analízis és az azt követő ultragyors PCR alatt detektáltuk a fluoreszcencia intenzitását. Az olvadási görbék csúcspontjait a fluoreszcens szignál negatív deriváltjának hőmérséklethez való viszonyának ábrázolásával nyertük. Az 55. pozícióban észlelt leucin L, míg a metionin M, a 192. pozícióban a glutamin Q, az arginin R genotípusnak felel meg.

### **3.9. A homocisztein és cisztatin C koncentrációk meghatározása**

A homociszteint és a cisztatin C-t a DEOEC Laboratóriumi Medicina Intézetében, valamint a Kenézy Kórház Laboratóriumában határozták meg. A homociszteint fluoreszcens polarizációs

módszerrel (FPIA, Abbott) mérték. A ditiotreitol szabad tiollá redukálja, így leválasztja a homociszteint az albuminról, egyéb kis molekulákról és diszulfidokról. Hozzáadott adenzin jelenlétében az S-adenozil-homocisztein-hidroláz a homociszteint S-adenozil-homociszteinné (SAH) alakítja. Ezt követően specifikus mononukleáris antitestet és fluoreszcens SAH-analóg tracet adnak a FPIA-rendszerhez. A totál homocisztein mennyiségét standard kalibrációs görbe segítségével számolták ki.

A cisztatin C meghatározását immun-turbidimetriás módszerrel (PETIA, Bühlmann) végezték. A széruminót cisztatin C-immunrézecskekkel keverték össze, majd az aggregációt követően a komplexek fényelnyelését turbidimetriás módszerrel mérték. Az elnyelés mértéke arányos a cisztatin C koncentrációjával, melyet standard kalibrációs görbe segítségével számoltak.

### **3.10. Statisztikai módszerek**

A vizsgálatok során SAS for Windows 6.12 (SAS Institute Inc., Cary NC 275313 USA) számítógépes programot használtunk statisztikai analízis céljából. Az adatok normális eloszlását, ezáltal az összehasonlíthatóságukat Kolmogorov-Smirnov tesztel ellenőriztük. A normál eloszlást mutató paramétereknél az adatok középérték $\pm$ szórás (SD) formában fejeztük ki, míg a nem-normál eloszlást mutató adatoknál medián illetve alsó és felső kvartilis értékeket alkalmaztunk. A különböző csoportok összehasonlítása során kétmintás t-próbát (Student-féle t-teszt) alkalmaztunk, szignifikánsnak tekintettük a  $p < 0.05$  értéket. Azon paramétereknél, amelyek nem mutattak normál eloszlást, ANOVA (varianciaanalízis) helyett a non-parametrikus Kruskal-Wallis-próbát alkalmaztuk. A PON1 paraoxonáz és laktonáz aktivitásokat, mint nem-normál eloszlású paramétereket, logaritmikusan normális eloszlásúvá transzformáltuk, ezeket az értékeket is feltüntettük. A különböző paraméterek közötti

korrelációkat Pearson korrelációs analízis segítségével ábrázoltuk. Multiplex regressziós analízist alkalmaztunk a két vizsgálat során, hogy meghatározzuk, mely paraméterek befolyásolják a PON1 paraoxonáz, illetve a PON1 laktonáz aktivitást.

A PON1-55 és a PON1-192 allélgyakoriságát, a genotípusok mennyiségét és frekvenciáját mind a betegcsoportokban, mind a kontrollcsoportban kiszámoltuk, majd az allélgyakoriság meghatározását követően  $\chi^2$ -próbával ellenőriztük a Hardy-Weinberg-törvény érvényességét a vizsgált populációban. A kapott eredményeket, a folytonos változók átlagát és szórását és a genotípusok-allélek gyakoriságát nemek szerint is vizsgáltuk. Az elemzés során a PON1-55M és a PON1-192Q genotípusokat választottuk referencia kategóriának.

## 4. Eredmények

### 4.1. A hemodializált és vesetranszplantált betegek PON1 paraoxonáz és laktonáz aktivitásának meghatározása

A hemodializált és vesetranszplantált betegek demográfiai és laboreredményeit a **2. táblázat**ban foglaltam össze. Az vizsgálatunkba 78 vesetranszplantált (TRX), 108 hemodializált (HD) és 63 egészséges kontroll személyt vontunk be. A triglicerid és összkoleszterol szintek szignifikánsan magasabbak, a HDL-koleszterol mennyisége szignifikánsan alacsonyabb volt a hemodializált betegekben a transzplantáltakhoz képest, ugyanakkor az LDL-koleszterol szintben nem volt különbség a két csoport között. A szérum glükóz, hsCRP, cystatin C és kreatinin koncentrációk szignifikánsan magasabbak voltak a HD csoportban a TRX betegekhez képest.

Szignifikánsan magasabb ADMA koncentrációkat találtunk a HD betegekben a transzplantált populációhoz képest. A kreatinin, hsCRP, glükóz, homocisztein, koleszterol, triglicerid és ADMA szintek mindkét betegcsoportban jelentősen nagyobbak voltak a kontrollokhoz képest (**2. táblázat**).

A HD és TRX betegekben a PON1 laktonáz és paraoxonáz aktivitások szignifikánsan alacsonyabbak voltak a kontrollokhoz képest. Jelentősen alacsonyabb paraoxonáz és laktonáz aktivitásokat mértünk a hemodializáltakban a TRX csoporthoz képest (**2. táblázat**).

|                            | <b>Kontroll (n=63)</b> | <b>Hemodializált (n=108)</b><br>(a dialízis ideje:<br>49±28 hónap) | <b>Transzplantált (n=78)</b><br>(a transzplantáció ideje:<br>67±49 hónap) | <b>Szignifikancia</b><br>ANOVA vagy<br>Kruskal-Wallis teszt | <b>Post hoc teszt</b><br>Newman-Keuls vagy<br>Mann-Whitney U-teszt |
|----------------------------|------------------------|--------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|
| Életkor (év)               | 50.27 ± 15.9           | 53.7 ± 9.2                                                         | 51.5 ± 9.63                                                               | n.s.                                                        |                                                                    |
| BMI (kg/m <sup>2</sup> )   | 22.69 ± 3.94           | 23.75 ± 4.25                                                       | 23.63 ± 3.11                                                              | n.s.                                                        |                                                                    |
| Triglicerid (mmol/l)       | 0.92 (0.68-1.75)       | 2.41 (1.7-3.42)                                                    | 2.05 (1.2-2.8)                                                            | s                                                           | a,b,c                                                              |
| Koleszterol (mmol/l)       | 4.72 ± 0.78            | 5.11 ± 1.99                                                        | 5.35 ± 1.22                                                               | s                                                           | a,b,c                                                              |
| LDL-koleszterol (mmol/l)   | 2.56 ± 0.76            | 2.88 ± 0.95                                                        | 2.89 ± 0.92                                                               | n.s.                                                        |                                                                    |
| HDL-koleszterol (mmol/l)   | 1.77 ± 0.48            | 1.17 ± 0.28                                                        | 1.63 ± 0.85                                                               | s                                                           | a,c                                                                |
| Glükóz (mmol/l)            | 4.51 ± 0.53            | 6.82 ± 2.7                                                         | 5.63 ± 1.87                                                               | s                                                           | a,b,c,                                                             |
| Cisztatin-C (mg/l)         | no data                | 3.58 (1.93-5.41)                                                   | 2.03 (1.68-3.06)                                                          | n.s.                                                        |                                                                    |
| Homocisztein (μmol/l)      | 9.91 ± 2.17            | 21.65 ± 7.18                                                       | 18.5 ± 4.8                                                                | s                                                           | a,b,c                                                              |
| Kreatinin (μmol/l)         | 67.5 ± 14.6            | 661 ± 222                                                          | 165 ± 73                                                                  | s                                                           | a,b,c                                                              |
| hsCRP (mg/l)               | 1.86 ± 1.2             | 9.78 ± 7.31                                                        | 3.8 ± 3.2                                                                 | s                                                           | a,b,c                                                              |
| ADMA (ng/ml)               | 152.8 ± 60.6           | 273.3 ± 74.2                                                       | 230.9 ± 52.5                                                              | s                                                           | a,b,c                                                              |
| Paraoxonáz aktivitás (U/l) | 99.4 (67.2-193.1)      | 46.78 (30.4-77.5)                                                  | 70.2 (39.5-114.2)                                                         | s                                                           | a,b,c                                                              |
| Paraoxonáz aktivitás/HDL   | 79.8 ± 48.2            | 54.1 ± 39.3                                                        | 59.2 ± 45.9                                                               | n.s.                                                        |                                                                    |
| Laktonáz aktivitás (U/l)   | 216.3 (166.4-332.3)    | 108.2 (83.1-170.2)                                                 | 133.2 (93.1-199.4)                                                        | s                                                           | a,b                                                                |
| Laktonáz aktivitás/HDL     | 146 ± 85               | 108 ± 67                                                           | 112 ± 86                                                                  | s                                                           | a,b                                                                |

s = szignifikancia, p<0.05; n.s.= nincs szignifikáns különbség

a = szignifikáns különbség a kontrollok és a hemodializáltak között (p<0.05); b = szignifikáns különbség a kontrollok és a transzplantáltak között (p<0.05); c = szignifikáns különbség a hemodializáltak és a transzplantáltak között (p<0.05)

**2. táblázat:** A vizsgált populáció jellemzői és laboratóriumi paraméterei. Az értékek átlagérték ±SD vagy median-érték (kvartilis)

A genotípusok meghatározását követően az allélfrekvenciák és a genotípusok megoszlását a HD és TRX betegekben a **3. táblázatban** foglaltam össze. Az allélfrekvenciák megfeleltek a korábbi tanulmányunkban közöltekkel (70) és az irodalmi adatokkal (144, 145), és a Hardy-Weinberg egyensúlyt követte. Nem találtunk szignifikáns eltérést a vizsgált betegcsoportok között.

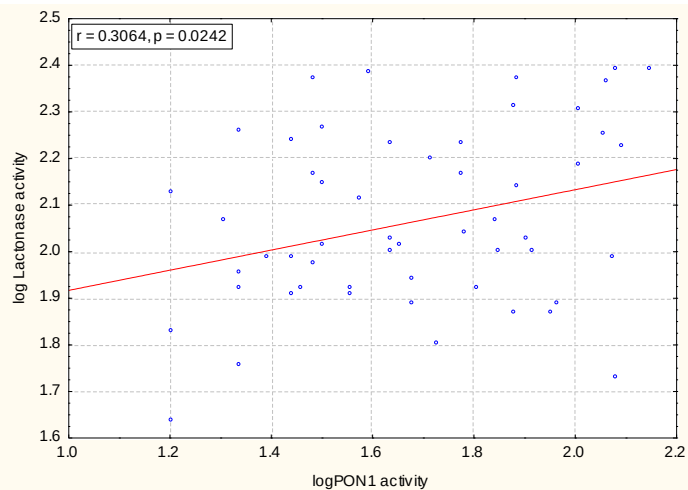
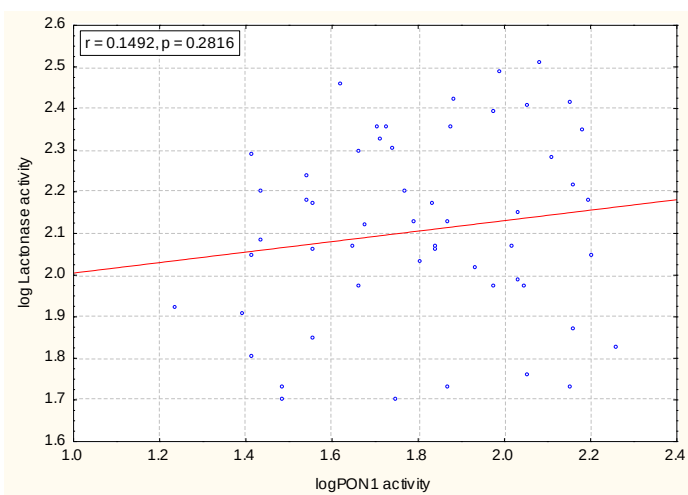
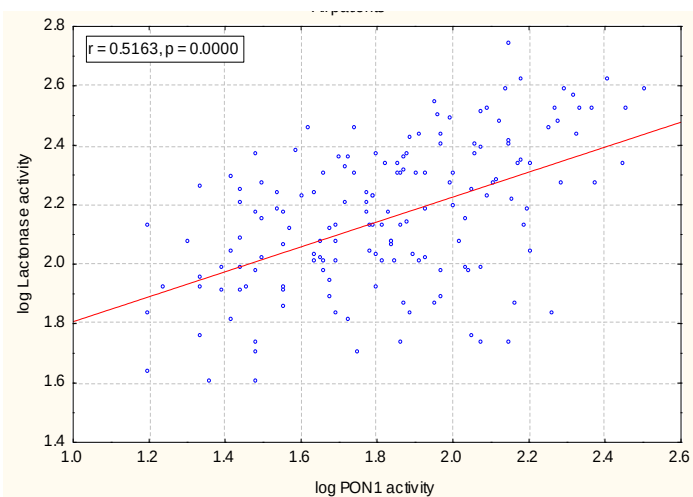
|             | Hemodializáltak (n=108) | Vesetranszplantáltak (n=78) |
|-------------|-------------------------|-----------------------------|
| PON1-192 Q: | 0.686                   | 0.682                       |
| PON1-192 R: | 0.314                   | 0.318                       |
| QQ:         | 0.465                   | 0.455                       |
| QR:         | 0.442                   | 0.455                       |
| RR:         | 0.093                   | 0.009                       |
| PON1-55 L:  | 0.337                   | 0.273                       |
| PON1-55 M:  | 0.663                   | 0.727                       |
| LL:         | 0.070                   | 0.091                       |
| LM:         | 0.535                   | 0.364                       |
| MM:         | 0.395                   | 0.545                       |

**3. táblázat:** Az allélfrekvencia és a genotípus-megoszlás a hemodializált és vesetranszplantált betegekben

Szignifikáns pozitív korrelációt találtunk a PON1 paraxonáz és laktonáz aktivitások között a HD betegekben ( $r=0.3064$ ,  $p<0.01$ ) (**7/A ábra**). Hasonló, de statisztikailag nem szignifikáns összefüggést észleltünk a TRX csoportban ( $r=0.1492$ ,  $p=0.2816$ ) (**7/B ábra**). Szignifikáns pozitív korrelációt találtunk a PON1 laktonáz és paraxonáz aktivitásokban a teljes vizsgált populációban ( $r=0.5163$ ,  $p<0.001$ ) (**7/C ábra**). Az ADMA szintek negatív összefüggést

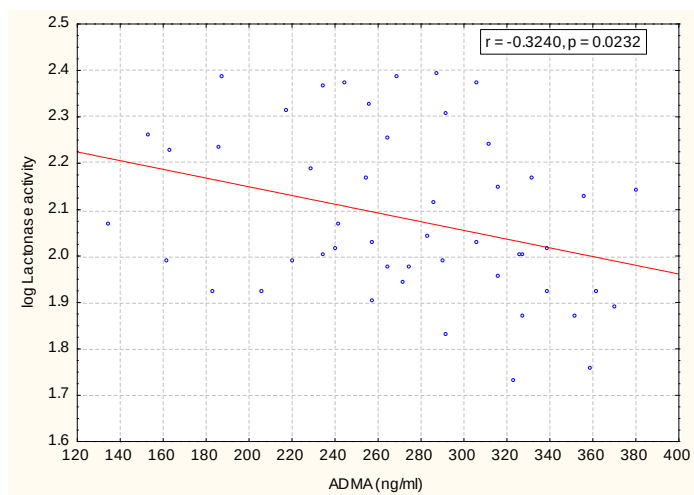
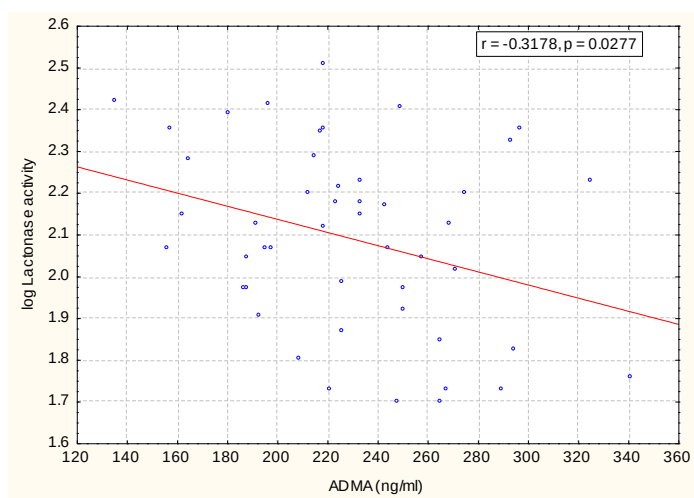
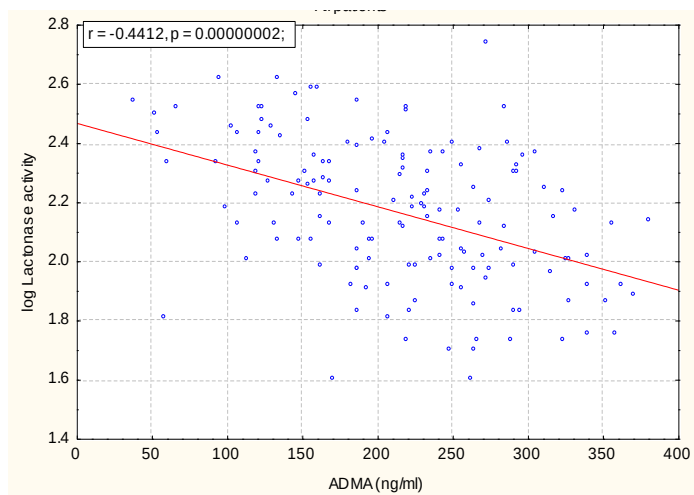
mutattak a PON1 laktonáz aktivitással mindkét betegcsoportban (HD:  $r=-0.3240$ ,  $p<0.05$ ; TRX:  $r=-0.3178$ ,  $p<0.05$ ) (7/D és 7/E ábrák) és a teljes vizsgált populációban ( $r=-0.4412$ ,  $p<0.001$ ) (7/F ábra). Szignifikáns pozitív korrelációt találtunk a PON1 paraxonáz és laktonáz aktivitások között a kontroll csoportban ( $r=0.6111$ ,  $p<0.001$ ). Negatív, de statisztikailag nem szignifikáns összefüggést észleltünk az ADMA koncentráció és a PON1 laktonáz aktivitások között ( $r=-0.1511$ ,  $p=0.21$ ).

A teljes populációban szignifikáns negatív korrelációkat figyeltünk meg a PON1 laktonáz aktivitás és a BMI ( $r=-0.2819$ ,  $p<0.01$ ), az életkor ( $r=-0.414$ ,  $p<0.001$ ), a homocisztein koncentráció ( $r=-0.3421$ ,  $p<0.001$ ) és hsCRP szint ( $r=-0.3231$ ,  $p<0.001$ ) között.

**A****B****C**

**7. a. ábra:** Összefüggések a PON1 laktonáz és paraoxonáz aktivitások között a hemodializált (A), transzplantált (B) és az összes betegnél (C).



**D****E****F**

**7. b. ábra:** Összefüggések a PON1 laktonáz aktivitás és az ADMA szintek között a hemodializált (D), transzplantált (E) és az összes betegnél (F).

A különböző vizsgált paraméterek közötti összefüggéseket Pearson korreláció analízissel vizsgáltuk. A szérumban homocisztein és hsCRP szinteket, PON1 paraoxonáz és laktonáz aktivitásokat logaritmikusan transzformáltuk, hogy normális eloszlást kapjunk. A vizsgált paraméterek közötti Pearson korrelációkat a teljes vizsgált populációban a **4. táblázatban** ábrázoltam.

|                 | BMI         | Cisztatin-C | Homociszt.  | Laktonáz akt. | HDL-C        | hsCRP        | Paraoxonáz akt. | ADMA         |
|-----------------|-------------|-------------|-------------|---------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|
| Év              | <b>0.31</b> | 0.06        | <b>0.51</b> | <b>-0.41</b>  | <b>-0.33</b> | <b>0.57</b>  | <b>-0.30</b>    | <b>0.52</b>  |
| BMI             |             | -0.01       | <b>0.35</b> | <b>-0.28</b>  | <b>-0.25</b> | <b>0.37</b>  | <b>-0.23</b>    | 0.14         |
| Cisztatin-C     |             |             | <b>0.55</b> | -0.04         | <b>-0.30</b> | 0.04         | <b>-0.28</b>    | 0.23         |
| Homocisztein    |             |             |             | <b>-0.34</b>  | <b>-0.31</b> | <b>0.41</b>  | <b>-0.29</b>    | <b>0.38</b>  |
| Laktonáz akt.   |             |             |             |               | <b>0.23</b>  | <b>-0.32</b> | <b>0.48</b>     | <b>-0.48</b> |
| HDL-C           |             |             |             |               |              | <b>-0.39</b> | <b>0.35</b>     | <b>-0.31</b> |
| hsCRP           |             |             |             |               |              |              | <b>-0.33</b>    | <b>0.35</b>  |
| Paraoxonáz akt. |             |             |             |               |              |              |                 | <b>-0.32</b> |

**4. táblázat:** Pearson-korrelációk a vizsgált populáció meghatározott paramétereinek között (a vastagon szedett korrelációs koefficiensek esetén szignifikáns az eltérés,  $p < 0.05$ )

Annak vizsgálatára, hogy az egyváltozós analízis során számított összefüggések, melyeket a PON1 laktonáz aktivitás, PON1 paraoxonáz aktivitás, a homocisztein koncentráció és ADMA szintek között találtunk, függetlenek-e az életkortól, a BMI-től, hsCRP és HDL-C szintektől, többszörös regressziós analízist végeztünk. Ennek eredményeként azt találtuk, hogy a PON1 paraoxonáz aktivitás és a homocisztein koncentráció független előrejelzői a PON1 laktonáz aktivitásnak az életkorra, a BMI-re, a hsCRP-re, ADMA-ra és HDL-C-re vonatkoztatva az alkalmazott modellben (5. táblázat).

|                 | Beta   | t      | p-érték      |
|-----------------|--------|--------|--------------|
| Intercept       |        | 9.395  | <0.005       |
| Év              | 0.004  | 0.036  | 0.971        |
| BMI             | -0.065 | -0.637 | 0.526        |
| logHomocisztein | -0.322 | -3.046 | <b>0.003</b> |
| HDL-koleszterol | -0.164 | -1.615 | 0.110        |
| loghsCRP        | -0.105 | -0.969 | 0.335        |
| logParaoxonáz   | 0.370  | 3.593  | <b>0.001</b> |
| ADMA            | -0.118 | -1.107 | 0.27         |

**5. táblázat:** A PON1 laktonáz aktivitás, mint függő változó vizsgálata többszörös regressziós analízissel ( $R^2=0.421$ )

## 4.2. A hemodializált betegek PON1 paraoxonáz és laktonáz aktivitásának összefüggése a tápláltsági állapottal

A vizsgálatunk demográfiai és laboreredményeit a **6. táblázat**ban foglaltam össze. Összesen 114 krónikus veseelégtelen beteget vontunk be a tanulmányba, akik több mint hat hónapja hemodialízis kezelésben részesülnek (a hemodialízis ideje:  $46 \pm 31$  hónap) és a testtömeg index (BMI) alapján 3 csoportba osztottuk őket. Alultápláltnak tekintettük a  $BMI < 20 \text{ kg/m}^2$  (N=21, 11 férfi/10 nő), normális és mérsékelten túlsúlyosnak (továbbiakban normál súlyúak csoportja) a  $20 \leq BMI \leq 30 \text{ kg/m}^2$  (N=51, 24 férfi/27 nő) és elhízottnak  $BMI > 30 \text{ kg/m}^2$  (N=42, 20 férfi/22 nő). A klinikai és laboratóriumi paramétereket a **6. táblázat**ban ábrázoltam. Nem volt szignifikáns eltérés a különböző csoportok között nemben, életkorban, a hemodialízis kezelés idejében, dohányzás és cukorbetegség szempontjából.

A leptin szintek szignifikánsan magasabbak és a PON1 paraoxonáz aktivitások szignifikánsan alacsonyabbak voltak az elhízott betegekben mind a normál súlyúakhoz, mind az alultápláltakhoz képest (**6. táblázat**). A plazma adiponektin koncentrációja szignifikánsan alacsonyabb volt az elhízottakban az alultápláltakhoz viszonyítva. Nem találtunk különbséget a betegcsoportok között az ADMA szint és a homocisztein koncentráció tekintetében. A PON1 laktonáz aktivitások magasabbak voltak az alultápláltakban az elhízott és a normál súlyú csoporthoz képest, de ez a különbség nem bizonyult szignifikánsnak.

Ahogy a **6. táblázat**ban látható, nem volt jelentős különbség a szérum HDL-koleszterol koncentrációk, a vércukor és a hsCRP szintekben az egyes csoportok között. Az alultápláltakban alacsonyabb triglicerid és alacsonyabb össz-koleszterol és LDL-koleszterol koncentrációkat mértünk a normál súlyú és az elhízott hemodializált betegekhez képest. A

kreatinin szintek között nem volt jelentős eltérés a három vizsgált csoportban, és a plazma albumin szintek is hasonlóak voltak az elhízott, az alultáplált és a normál súlyú betegeknél.

|                              | Alultáplált (n=21)                | Normál súlyúak (n=51)        | Elhízott (n=42)                   | p      |
|------------------------------|-----------------------------------|------------------------------|-----------------------------------|--------|
| Életkor (év)                 | 56.67± 8.1                        | 61.78± 10.7                  | 60.14± 9.85                       | n.s.   |
| BMI (kg/m <sup>2</sup> )     | 18.92± 0.69 <sup>a,c</sup>        | 25.71± 2.8 <sup>a,b</sup>    | 33.49 ± 2.76 <sup>b,c</sup>       | <0.001 |
| Triglicerid (mmol/l)         | 1.85 (1.0-2.7) <sup>c</sup>       | 2.64 (0.98-4.3) <sup>b</sup> | 3.49 (1.03-5.95) <sup>b,c</sup>   | <0.05  |
| Koleszterol (mmol/l)         | 4.54± 0.8 <sup>a,c</sup>          | 5.3± 0.95 <sup>a</sup>       | 5.22± 1.03 <sup>c</sup>           | <0.05  |
| LDL-koleszterol (mmol/l)     | 2.47± 0.73 <sup>a</sup>           | 3.08± 0.92 <sup>a</sup>      | 2.89± 1.01                        | <0.05  |
| HDL-koleszterol (mmol/l)     | 1.23± 0.29                        | 1.2± 0.26                    | 1.13± 0.28                        | n.s.   |
| Glükóz (mmol/l)              | 5.24± 2.2                         | 5.69± 1.63                   | 5.22± 1.49                        | n.s.   |
| Homocisztein (μmol/l)        | 18.37± 5.69                       | 23.9± 9.57                   | 22.07± 5.01                       | n.s.   |
| Kreatinin (μmol/l)           | 603.14± 175.68                    | 640.87 ± 200.39              | 709.71 ± 253.91                   | n.s.   |
| hsCRP (mg/l)                 | 9.06± 5.65                        | 8.24± 7.08                   | 11.55± 7.97                       | n.s.   |
| Adiponectin (ng/ml)          | 19.5±8.61 <sup>c</sup>            | 16.03±6.44                   | 13.64±7.46 <sup>c</sup>           | <0.01  |
| Leptin (pg/ml)               | 8.59±7.79 <sup>c</sup>            | 16.97±10.16 <sup>b</sup>     | 52.13±38.84 <sup>b,c</sup>        | <0.01  |
| Paraoxonáz aktivitás (U/l)   | 75.95 (30.92-151.9) <sup>c*</sup> | 51.82 (15.86-87.78)          | 48.84 (22.94-74.74) <sup>c*</sup> | <0.05  |
| Paraoxonáz aktivitás/HDL     | 65.59± 48.26                      | 54.96± 42.08                 | 45.28± 27.9                       | n.s.   |
| Laktonáz aktivitás (U/l)     | 141.11 (77.68-204.54)             | 121.89 (65.25-178.53)        | 114.01 (61.81-166.21)             | n.s.   |
| ADMA (ng/ml)                 | 276.76± 51.67                     | 253.99± 75.96                | 283.76± 58.62                     | n.s.   |
| Arilészteráz aktivitás (U/l) | 105.98± 14.65                     | 103.27± 9.32                 | 101.87± 14.12                     | n.s.   |
| Albumin (mg/l)               | 37.6± 2.3                         | 38.97± 2.46                  | 38.83± 2.15                       | n.s.   |

Sziginfikancia a) az alultápláltak és a normál súlyúak; b) az elhízottak és a normál súlyúak, c) az alultápláltak és az elhízottak között

\*szignifikancia Bonferroni-Holm korrekció nélkül

**6. táblázat:** A vizsgált populáció jellemzői és laboratóriumi paraméterei. Az értékek átlagérték ±SD vagy median-érték (kvartilis)

Az allélfrekvenciák és a genotípusok eloszlását az alultáplált, normál súlyú és elhízott hemodializált betegeknél a **7. táblázatban** foglaltam össze. Az allélfrekvenciák a korábbi tanulmányunkban (70) és az irodalomban (144, 145) leírt megoszlásoknak megfelelően alakultak és a Hardy-Weinberg egyensúlynak megfelelnek. Nem találtunk szignifikáns eltérést a vizsgált betegcsoportok között.

|                                                                          | Alultápláltak(n=21) | Normál súlyúak(n=51) | Elhízottak(n=42) |
|--------------------------------------------------------------------------|---------------------|----------------------|------------------|
| PON1-192                                                                 |                     |                      |                  |
| Q:                                                                       | 0.68                | 0.65                 | 0.68             |
| R:                                                                       | 0.32                | 0.35                 | 0.32             |
| QQ:                                                                      | 0.474               | 0.441                | 0.472            |
| QR:                                                                      | 0.421               | 0.412                | 0.417            |
| RR:                                                                      | 0.105               | 0.147                | 0.111            |
| PON1-55                                                                  |                     |                      |                  |
| L:                                                                       | 0.32                | 0.3                  | 0.32             |
| M:                                                                       | 0.68                | 0.7                  | 0.68             |
| LL:                                                                      | 0.117               | 0.086                | 0.105            |
| LM:                                                                      | 0.412               | 0.429                | 0.421            |
| MM:                                                                      | 0.471               | 0.485                | 0.474            |
| PON1-192 $\chi^2=0.1955$ p=0.9955      PON1-55 $\chi^2=1.5417$ p=0.81922 |                     |                      |                  |

**7. táblázat:** Az allélfrekvencia és a genotípus-megoszlás az alultáplált, a normál súlyú és az elhízott hemodializált betegekben

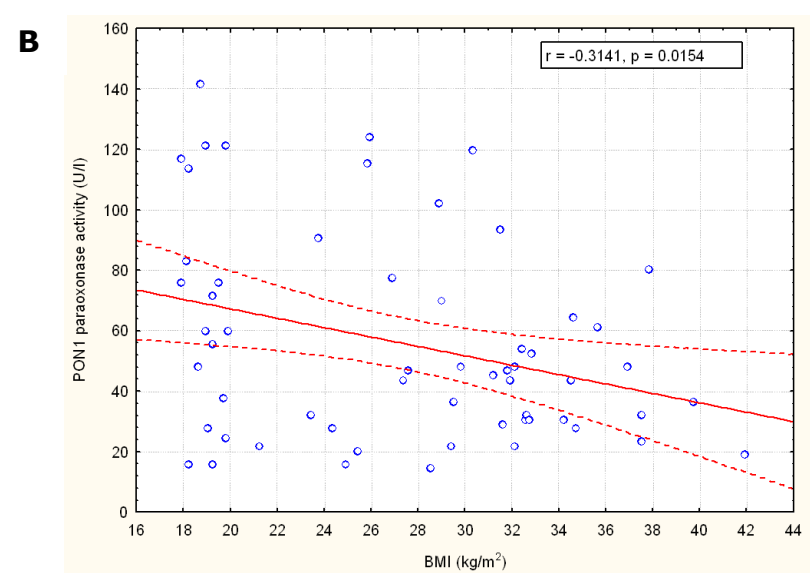
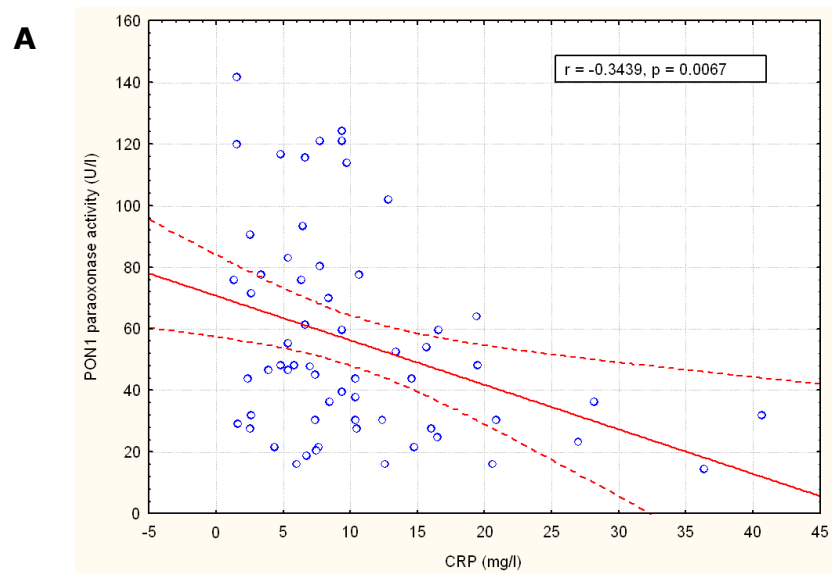
A PON1 paraoxonáz aktivitás negatívan korrelált a hsCRP szinttel az összes hemodializált beteg esetén ( $r=-0.344$ ,  $p<0.01$ ; **8. táblázat** és **8A ábra**) és különválasztva az alultáplált csoportban ( $r=-0.519$ ,  $p<0.01$ ). Nem találtunk szignifikáns összefüggést a szérum PON1



paraoxonáz aktivitás és a hsCRP között az elhízott és a normál súlyú hemodializált csoportban. Szignifikáns pozitív korreláció volt a BMI és a hsCRP között az összes hemodializáltnál ( $r=0.586$ ,  $p<0.01$ ; **8. táblázat**), külön vizsgálva az alultápláltakban ( $r=0.402$ ,  $p<0.01$ ) és külön az elhízott csoportban is ( $r=0.485$ ,  $p<0.01$ ). Ezenkívül szignifikáns inverz korrelációt figyeltünk meg a PON1 paraoxonáz aktivitás és a BMI között az összes hemodializáltnál ( $r=-0.314$ ,  $p<0.05$ ; **8. táblázat** és **8B ábra**) és a teljes vizsgált (hemodializált és kontroll) populációban ( $r=-0.303$ ,  $p<0.05$ ). Nem találtunk szignifikáns összefüggést a szérumban PON1 paraoxonáz aktivitás és az adiponektin szintek között a hemodializált betegekben; azonban pozitívan korreláltak ezek a paraméterek a normál súlyú hemodializáltakban ( $r=0.326$ ,  $p<0.05$ ). Pozitív összefüggést találtunk az adiponektin és a PON1 laktonáz aktivitás között ( $r=0.303$ ,  $p<0.05$ ) és szignifikáns negatív korrelációt a PON1 laktonáz aktivitás és a hsCRP között ( $r=-0.318$ ,  $p<0.05$ ) az összes hemodializált betegben (**8. táblázat**).

|                 | BMI   | Paraoxonáz akt. | Laktonáz akt.  | hsCRP           | Adiponektin     | Leptin          | ADMA           |
|-----------------|-------|-----------------|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|----------------|
| Életkor         | 0.153 | -0.077          | -0.134         | 0.106           | 0.001           | -0.013          | 0.168          |
| BMI             |       | <b>-0.314*</b>  | -0.138         | <b>0.586**</b>  | <b>-0.357**</b> | <b>0.563***</b> | 0.023          |
| Paraoxonáz akt. |       |                 | <b>0.366**</b> | <b>-0.344**</b> | 0.061           | <b>-0.293*</b>  | -0.084         |
| Laktonáz akt.   |       |                 |                | <b>-0.318*</b>  | <b>0.303*</b>   | 0.023           | <b>-0.314*</b> |
| hsCRP           |       |                 |                |                 | <b>-0.260*</b>  | -0.097          | -0.089         |
| Adiponektin     |       |                 |                |                 |                 | -0.180          | 0.080          |
| Leptin          |       |                 |                |                 |                 |                 | 0.071          |

**8. táblázat:** Pearsons-korrelációk a vizsgált hemodializált csoportban (a szignifikáns értékek vastagon szedettek, szignifikancia értékek: \*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001)



**8. ábra:** A PON1 paraoxonáz aktivitás és a hsCRP szint közötti korreláció az egész hemodializált csoportban (A). A PON1 paraoxonáz aktivitás és a BMI közötti korreláció az összes hemodializált betegben (B)

Annak eldöntésére, hogy a PON1 paraoxonáz aktivitás és hsCRP szint közötti összefüggés az egyváltozós vizsgálat során független-e az életkortól, a BMI-től és egyéb paraméterektől, többszörös regressziós analízis végeztünk. A modellben a PON1 laktonáz aktivitás, a hsCRP és a leptin koncentrációk a PON1 paraoxonáz aktivitás független előrejelzőinek bizonyultak az életkorra, a BMI-re, az ADMA és az adiponektin koncentrációkhoz viszonyítva (**9. táblázat**).

|               | Beta   | t      | p-érték      |
|---------------|--------|--------|--------------|
| Intercept     |        | 1.279  | <0.05        |
| Életkor       | 0.012  | 0.078  | 0.938        |
| BMI           | 0.024  | 0.115  | 0.909        |
| Laktonáz akt. | 0.406  | 2.331  | <b>0.027</b> |
| hsCRP         | -0.488 | -2.798 | <b>0.009</b> |
| Adiponektin   | -0.247 | -1.419 | 0.167        |
| Leptin        | -0.411 | -2.069 | <b>0.047</b> |
| ADMA          | 0.046  | 0.284  | 0.778        |

**9. táblázat:** Többszörös regressziós analízis, ahol a paraoxonáz aktivitás szerepel, mint függő változó ( $R^2=0.211$ )

## 5. Megbeszélés

A humán paraoxonáz (PON) gén család 3 tagból áll: a PON1, a PON2 és a PON3 enzimekből. A PON1 paraoxonáz, arilészteráz és laktonáz aktivitással rendelkezik; a PON2 és a PON3 enzimeknek laktonáz aktivitásuk van, de gyakorlatilag nem rendelkezik paraoxonáz vagy arilészteráz aktivitásokkal. A humán PON1 jelen van a szérumban és a HDL-koleszterolhoz kapcsolódik. A PON3 szintje a PON1-hez képest jelentősen alacsonyabb koncentrációban, a PON2 egyáltalán nincs jelen a szérumban (78, 146). Ezáltal a laktonáz enzim meghatározása elsődlegesen a PON1 enzim laktonáz aktivitását mutatja. Kosaka és munkatársai azt találták egy korábbi vizsgálatukban, hogy a PON1 laktonáz aktivitás alkalmas markernek bizonyult az atherosclerosis kockázatának jellemzésére diabetes mellitusban (86). Munkacsoportunk korábbi munkáiban az mutattuk ki, hogy a PON1 genotípus, az összhomocisztein és az összkoleszterol szintek határozzák meg elsődlegesen a PON1 aktivitást mind egészséges személyeknél, mind krónikus veseelégtelenségben szenvedő betegeknél. Továbbmenően, az irodalmi adatok és a korábbi vizsgálataink alapján nem találtunk különbséget a PON1 genotípusok között egészséges egyékekben, illetve hemodializált és vesetranszplantált betegeknél (64, 70, 144, 147). Jelen vizsgálatunkban sem találtunk különbséget a korábbi eredményeinknek megfelelően a PON1 genotípusokban hemodializált és vesetranszplantált betegeknél.

Korábban már több tanulmány igazolta, hogy jelentősen csökken a PON1 paraoxonáz aktivitás a krónikus veseelégtelen betegeknél, ezzel összefüggésben fokozódik az érlemezés és nő a kardiovaszkuláris morbiditás és mortalitás ebben a betegcsoportban (64, 146, 147, 148), viszont a PON1 laktonáz aktivitás változását rajtuk kívül még nem vizsgálták krónikus veseelégtelenségben. Az eredményeink alátámasztották a kiindulási

hipotézist, miszerint a PON1 paraoxonáz és laktonáz aktivitások csökkenése, s ezáltal az antiatherogén hatásuk redukciója összefüggést mutat a végstádiumú veseelégtelen betegekben észlelt fokozott érlemezéssel, különösen a hemodializált betegekben, míg a PON1 paraoxonáz és laktonáz aktivitások részlegesen javulnak a vesetranszplantációt követően. A vesetranszplantált betegekben észlelt magasabb PON1 paraoxonáz és laktonáz aktivitások magasabb HDL-koleszterol szinttel is jártak a hemodializált vesebetegekhez viszonyítva, mely jobb antioxidáns védelemre utal a veseátültetést követően. A HDL-koleszterol koncentrációra normalizált PON1 paraoxonáz és laktonáz aktivitásokban nem láttunk szignifikáns különbséget a hemodializáltak és a vesetranszplantáltak között, mely szintén a transzplantáltakban észlelt magasabb HDL-koleszterol szinttel függhet össze, hiszen ez szinergista PON1 enzimemelkedéssel járhat, ezáltal mind a PON1 paraoxonáz, mind a PON1 laktonáz aktivitások fokozódhatnak a betegekben.

A krónikus veseelégtelen betegekben a csökkent vesefunkcióval egyidejűleg szignifikánsan magasabb homocisztein és cisztatin C szinteket találtunk a kontroll csoporthoz képest, ez szintén szerepet játszik az érlemezés progressziójában. A legújabb tanulmányok azt igazolták, hogy a cisztatin C, egy alacsony molekulású bázikus protein, melyet minden sejtmaggal rendelkező sejt közel állandó szinten termel, sokkal érzékenyebben jellemzi a GFR-t, mint a szérum kreatinin a felnőttekben, beleértve a krónikus veseelégtelen betegeket is (92, 148). A cisztatin C szintje szignifikánsan alacsonyabb volt a transzplantált betegekben a dializáltakhoz képest, bár a különbség nem volt szignifikáns.

Az utóbbi években különböző eredetű vesebetegségek esetén igazolták a vazoaktív mediátor NO központi szerepét az urémiás eredetű angiopathia kialakulásában (92). Az NO erős értágító hatást fejt ki az érendothelen, NO-szintáz enzim termeli L-arginin-aminosav-prekursorból. Az ADMA kompetitíven gátolja a NO-szintáz enzimet, ezáltal befolyásolja a lipid peroxidációt és az érfal szuperoxid termelését. Az emelkedett ADMA koncentráció és az

ezzel összefüggő oxidatív stressz, a csökkent NO produkció fokozza a veseelégtelenség progresszióját, továbbá az ADMA vizeletbe történő kiválasztódása összefüggést mutat a csökkenő kreatinin clearance-szel (92, 149). Az utóbbi években az is igazolódott, hogy az emelkedett plazma ADMA szintben mind a csökkent kiválasztása, mind a csökkent lebomlása szerepet játszik (149, 150), és különböző vizsgálatok azt mutatták, hogy az ADMA ugyanolyan “urémiás toxinnak” tekinthető a krónikus vesebetegekben, mint a kreatinin vagy a parathormon (150, 151). Korábbi tanulmányok azt is igazolták, hogy az ADMA az oxidatív stressz megbízható markere CVE-ben és emelkedett koncentrációja fontos rizikófaktor a krónikus veseelégtelen betegekben kialakuló kardiovaszkuláris megbetegedések szempontjából (152). A mi munkánk szintén megerősíti ezeket a megfigyeléseket; jelentősen magasabb ADMA szinteket észleltünk a hemodializált betegekben, mint a transzplantált csoportban. Szignifikáns inverz korrelációt találtunk a szérum ADMA koncentráció és PON1 laktonáz aktivitás között, és hasonló, de statisztikailag nem szignifikáns tendencia volt megfigyelhető az ADMA szintek és a PON1 paraoxonáz aktivitások között a hemodializáltakban és a transzplantáltakban egyaránt. Az általunk talált összefüggések alapján szoros kapcsolatot feltételezhetünk az oxidatív stressz, az emelkedett ADMA koncentrációk és a csökkent antioxidáns aktivitás között krónikus veseelégtelenségben, mely felelős lehet a fokozott reaktív oxigén gyökök (ROS) termeléséért, és a fokozott érlemezésért ebben a betegcsoportban. Ennek tisztázására további molekuláris biológiai és biokémiai vizsgálatok szükségesek, azonban kijelenthetjük az általunk nyert és az irodalmi adatok áttekintése alapján, hogy az emelkedett ADMA koncentráció és az oxidatív stressz együtt jelentősen befolyásolhatja az endotheliális diszfunkciót a krónikus veseelégtelenségben és ennek mérése lényeges információt adhat a kardiovaszkuláris rizikó becslésére ezekben a betegekben. Másfelől nem találtunk szignifikáns összefüggést a szérum ADMA és a cisztatin C szintek között, mely komplex mechanizmust feltételez az ADMA anyagcseréjében,

szabályozásában és a szervezetből való kiürülésében. Ezáltal az ADMA koncentráció nem mutatott szoros összefüggést a vesefunkció (a GFR) romlásával a veseelégtelen betegekben.

Az irodalmi adatok egységesek abban, hogy mind a hemodializált, mint a vesetranszplantált betegekben jelentős hyperhomociszteinaemia figyelhető meg és ez is fokozza az atherosclerosis folyamatát (153). Eredményeink alapján nem találtunk jelentős különbséget a két betegcsoport között a szérum homocisztein szintek között, viszont mind a két csoportban mintegy kétszer magasabb homocisztein koncentrációt mértünk a normál értékekhez képest. Korábbi vizsgálatok azt igazolták, hogy a magasabb szérum homocisztein szintek alacsonyabb PON1 paraoxonáz aktivitással járnak a koszorúsér betegségben szenvedő betegeknél, s ez az eltérés szorosan összefügg a kardiovaszkuláris megbetegedés súlyosságával (153, 154). Más szerzők azt találták, hogy a szérum homocisztein koncentráció inverzen korrelál a PON1 laktonáz aktivitással coronaria betegségben, továbbá az emelkedett homocisztein szint és a csökkent PON1 laktonáz aktivitás is független rizikófaktoroknak bizonyultak a kardiovaszkuláris eredetű betegségek szempontjából az átlag populációban (85, 155). Krónikus veseelégtelenségben ezt az összefüggést korábban még nem vizsgálták, mi szignifikáns negatív korrelációt mutattunk ki a PON1 laktonáz aktivitás és a szérum homocisztein koncentráció között. A munkánk során több, különböző változó összefüggését vizsgáltuk a PON1 laktonáz aktivitással (életkor, BMI, HDL-koleszterol, hsCRP, ADMA, homocisztein koncentrációk és PON1 paraoxonáz aktivitás), az eredménye alapján multiregressziós analízist végeztünk és azt találtuk, hogy csak a homocisztein szint és a PON1 paraoxonáz aktivitás voltak független előrejelzői a PON1 laktonáz aktivitásnak a vizsgált betegcsoportban.

Meg kell jegyezni, hogy voltak bizonyos korlátai a vizsgálatunknak. A vesetranszplantációt követően a betegek különböző immunoszuppresszív terápiában részesültek, ami feltételezhetően módosíthatja a PON1 laktonáz aktivitást, viszont egy korábbi munkánkban



igazoltuk, hogy a betegeknél alkalmazott immunoszuppresszív gyógyszerek nem befolyásolták a szérumszinteket, a lipid paramétereket vagy a PON1 paraoxonáz aktivitást krónikus veseelégtelenségben (64). Az intima-media vastagság vagy az áramlásmediált dilatáció mérése és az eredményeink összehasonlítása megerősíthetné azt a feltételezésünket, hogy a PON1 laktonáz aktivitás az érlemezés előrejelzőjeként alkalmazható krónikus veseelégtelenségben.

Eredményeink alapján felvetődött a kérdés, hogy krónikus veseelégtelenségben a tápláltsági állapot hogyan befolyásolja az érlemezés folyamatát és a vizsgált paraméterek alkalmasak lehetnek-e a kardiovaszkuláris rizikó becslésére az elhízott és az alultáplált hemodializált betegeknél. Korábbi tanulmányainkban már kimutattuk, hogy a szérumszint PON1 paraoxonáz és laktonáz aktivitások szignifikánsan csökkennek krónikus veseelégtelenségben (146, 156). A jelen vizsgálatunkban jelentősen magasabb PON1 paraoxonáz aktivitást mértünk az alultáplált hemodializáltaknál az elhízott csoporthoz képest, és hasonló eltérést észleltünk a PON1 laktonáz aktivitásban is, azonban ez utóbbi nem bizonyult statisztikailag szignifikáns különbségnek. Pozitív korrelációt találtunk a szérumszint adiponektin és PON1 laktonáz aktivitás között és szignifikáns negatív összefüggést a PON1 laktonáz aktivitás és a hsCRP szintek között az egész hemodializált csoportban. Ezen eredmények elégtelen antioxidáns státuszra utalnak a krónikus veseelégtelenségben szenvedő betegeknél, és kifejezetten az elhízottakban növekszik meg az érlemezés folyamatát gyorsító oxidatív stressz az alultápláltakhoz képest. Eredményeink alátámasztják a kiindulási hipotézisünket, miszerint a csökkent szérumszint PON1 paraoxonáz és laktonáz aktivitás fokozhatja a krónikus veseelégtelenségre jellemző felgyorsult atherosclerosist, különösen az elhízott hemodializált betegeknél.

Korábbi irodalmi adatok alapján közvetlen összefüggés igazolódott a testtömeg index (BMI) és a krónikus veseelégtelenség kialakulása között, illetve összefüggést találtak a BMI és a

krónikus vesebetegségek növekvő prevalenciája között túlsúlyos és elhízott egyéneknél (157, 158). A vizsgálat során mérsékelten emelkedett szérum kreatinin szintet észleltünk betegeinknél a BMI függvényében. Korábban azt feltételezték, hogy ez az emelkedés kapcsolatban lehet a krónikus veseelégtelenség progressziójával hemodializált betegben (157); azonban mi nem találtunk szignifikáns eltérést az elhízott és az alultáplált betegcsoportok között a vesefunkció tekintetében. Továbbá nem volt kapcsolat a BMI és a szérum albumin szint között a hemodializáltakban, ami alátámasztja a legújabb irodalmi adatokat, miszerint az albumin nem megbízható marker a tápláltsági állapot becslésére krónikus veseelégtelenségben és általában az idősebb pácienseknél sem (159, 160).

A leptin fiziológiás szerepe a vesefunkció kialakításában egyelőre még tisztázatlan. Azt gondoljuk, hogy potenciális szabályozó szereppel bír az elektrolit kiválasztásban és szerepet játszik olyan kórfolyamatok, mint az elhízás és az azzal összefüggésben kialakuló magasvérnyomás betegség közötti kapcsolat kialakításában (113). Azt is megfigyelték, hogy a hiperleptinémia a vesék mikroszkópos strukturális változásaival jár elhízás esetén (109). A leptint részben a vese választja ki és ezzel összefüggésben a veseelégtelenségben szenvedőknél magasabb leptin koncentrációkat találtak, korábbi tanulmányunk azt igazolta, hogy nem a hiperleptinémia felelős a csökkent PON1 paraoxonáz aktivitásért a hemodializált betegekben (114). Ezáltal a hiperleptinémia független előrejelzője lehet a veseelégtelenség progressziójának és fokozott kardiovaszkuláris kockázattal járhat az elhízott hemodializált betegekben.

Korábbi irodalmi adatok azt mutatták, hogy az oxidatív stressz és az állandóan jelenlévő generalizált kisfokú krónikus gyulladás miatt fokozódik az albuminuria és a renális diszfunkció a veseelégtelenségben. Az alacsonyabb adiponektin szint szorosan korrelált a krónikus gyulladással és az érlemeszesedéssel vesetranszplantáción átesett betegeknél (124);

azonban mi nem találtunk összefüggést a szérumban adiponektin szint és a PON1 paraoxonáz aktivitás között a hemodializált veseelégteleneknél, tápláltsági állapotuktól függetlenül.

Eredményeink alapján azt feltételezzük, hogy a PON1 paraoxonáz aktivitás indikátora lehet a veseelégtelenség progressziójának mind az alultáplált, mind az elhízott hemodializált betegekben. Különböző változók összefüggéseit többszörös regressziós analízissel vizsgálva (életkor, BMI, HDL-koleszterol, hsCRP, ADMA, leptin, adiponectin, PON1 laktonáz aktivitás) azt találtuk, hogy csak a PON1 laktonáz aktivitás, a leptin koncentráció és a hsCRP szint bizonyult a PON1 paraoxonáz aktivitás független előrejelzőjének.

Ellentmondásos megfigyelésként egyes szerzők azt találták, hogy a magasabb BMI kedvezőbb túléléssel társul a túlsúlyos és az elhízott krónikus hemodializált veseelégtelen betegekben a normál súlyúakkal és az alultápláltakkal szemben. A reverz epidemiológia tehát a magasabb BMI jótékony hatását feltételezi a kardiovaszkuláris mortalitás szempontjából ezekben a betegekben (161, 162, 163). Ezt a jelenséget „reverz epidemiológiának” nevezik és az egyik leginkább vitatott kérdés a hemodializált betegek mortalitásának vizsgálata szempontjából. Különböző vizsgálatok azt a következtetést vonták le, hogy a malnutríció és a gyulladás jelenléte (malnutríció-inflammáció-atherosclerosis komplex) megmagyarázhatja a reverz epidemiológia jelenségét a hemodializált betegekben (162, 164, 165).

## 6. Összefoglalás

Vizsgálatunk alapján az antiatherogén PON1 enzim aktivitásának jelentős csökkenését észleltük krónikus veseelégtelenségben, ez a változás kifejezetten az elhízott hemodializált betegeknél volt megfigyelhető az alultápláltakhoz képest. Tekintettel arra, hogy ez ellentmond a reverz epidemiológia által észlelt kedvező mortalitási adatoknak, további vizsgálatok szükségesek a tápláltsági állapot valódi hatásának tisztázására az elhízott és alultáplált vesebetegek kardiovaszkuláris rizikója szempontjából. Egyre több irodalmi adat támasztja alá a kiindulási hipotézisünket, miszerint a PON1 enzim antioxidáns tulajdonságai a paraoxonáz aktivitással, nem a laktonáz aktivitással állnak kapcsolatban (166, 167). Ezért vizsgáltuk elsődlegesen a PON1 paraoxonáz aktivitás és a krónikus veseelégtelen betegek antioxidáns státuszának összefüggéseit a tápláltsági állapot függvényében. Célunk volt, hogy igazoljuk a PON1 paraoxonáz és laktonáz aktivitásainak változását és összefüggését az alultáplált, normál súlyú és elhízott hemodializált betegekben. Eredményeink azt mutatták, hogy a PON1 paraoxonáz aktivitás megbízható markere lehet a veseelégtelenség progressziójának az érlelmeszedés szempontjából. A legjobb tudomásunk szerint nem ismert specifikus szubsztrát vagy enzim, mely befolyásolná a PON1 laktonáz aktivitását, viszont igazoltuk, hogy a PON1 enzim laktonáz aktivitása nem független a PON1 paraoxonáz aktivitásától krónikus veseelégtelen betegekben (156, 168).

Vizsgálataink során az találtuk, hogy a PON1 enzim laktonáz aktivitása egy új és potenciálisan jól használható faktor lehet a kardiovaszkuláris rizikó becslésére krónikus veseelégtelenségben, de további vizsgálatok szükségesek még ezen enzimaktivitás jelentőségének megítélésére mind a hemodializált, mind a vesetranszplantált betegeknél. Az eredményeinkből arra következtethetünk, hogy a magas homocisztein szint, az emelkedett

ADMA koncentráció, a csökkent PON1 laktonáz aktivitás, ezáltal a homocisztein-tiolakton hidrolízisének csökkenése az homociszteinilált és oxidatív módon módosult fehérjék szintjének emelkedéséhez vezet a szervezetben, mely elősegíti a hemodializált és vesetranszplantált betegekben az érrelmeszesedés progresszióját (156, 168).

## Summary

Our current study is the first account of the alteration of lactonase activity in ESRD patients. Moreover, we showed in hemodialyzed and renal transplant patients that PON1 lactonase activity correlates with paraoxonase activity, homocysteine levels and serum ADMA levels. We conclude that hyperhomocysteinemia, elevated ADMA levels, reduced PON1 activity and decreased ability to hydrolyze homocysteine-thiolactone may lead to an increase in N-homocysteinylated and oxidatively modified protein levels, which might contribute to the accelerated atherosclerosis in uremic and renal transplanted patients.

Our results show significantly lower activities of the antiatherogenic PON1 in obese HD patients compared to malnourished subjects. Despite our findings regarding the reverse epidemiology for the mortality of HD patients, further studies are needed to reveal the real effects of nutritional state on atherosclerosis in obese and malnourished CKD patients. There is growing evidence in the literature to support our initial hypothesis that the antioxidant properties of PON-1 enzyme are closely associated with PON1 paraoxonase activity and not with lactonase activity. Therefore, in the present study we have primarily investigated the relationship between PON1 paraoxonase activity and the antioxidant status in chronic kidney disease depending on nutritional status. Our goal was to evaluate the alteration of PON1 paraoxonase and lactonase activities and their correlations with nutrition levels in

malnourished, normal-weight and obese hemodialyzed patients. Our result suggests that PON1 paraoxonase activity may be a reliable marker regarding the progression of renal failure in malnourished subjects compared with the obese hemodialyzed patients. To our best knowledge, there is no specific substance or enzyme, which can determine the lactonase activity of PON1 enzyme. Otherwise, we have shown in our previous study that the PON1 lactonase activity was not independent of PON1 paraoxonase activity in patients with chronic kidneydisease.

## 7. Irodalomjegyzék

1. Abecassis M, Bartlett ST, Collins AJ, Davis CL, Delmonico FL, Friedewald JJ, Hays R, Howard A, Jones E, Leichtman AB, Merion RM, Metzger RA, Pradel F, Schweitzer EJ, Velez RL, Gaston RS: Kidney Transplantation as Primary Therapy for End-Stage Renal Disease: A National Kidney Foundation/Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (NKF/KDOQI™) Conference. Clin J Am Soc Nephrol 2008;3:471-480.
2. Kiss I, Mátyus J, Szegedi J, Kulcsár I, Ladányi E, Sonkodi S, Túri S, Nagy J: A renalis anémia vizsgálata és kezelése chronicus veseelégtelenségben (MNT-EPO' 2001). Szakmai irányelv. Hypertonia és Nephrologia 2001;5:45-54.
3. Oniscu GC, Brown H, Forsythe JL: Impact of cadaveric renal transplantation on survival in patients listed for transplantation. J Am Soc Nephrol 2005;16:1859-1865.
4. Rao PS, Merion RM, Ashby VB, Port FK, Wolfe RA, Kayler LK: Renal transplantation in elderly patients older than 70 years of age: results from the Scientific Registry of Transplant Recipients. Transplantation 2007;83:1069-1074.
5. Heldal K, Hartmann A, Grootendorst DC, de Jager DJ, Leivestad T, Foss A, Midtvedt K: Benefit of kidney transplantation beyond 70 years of age. Nephrol Dial Transplant 2010;25:1680-1687.
6. Wolfe RA, Roys EC, Merion RM: Trends in organ donation and transplantation in the United States, 1999-2008. Am J Transplant 2010;10:961-972.
7. Foley RN, Parfrey PS, Sarnak MJ: Clinical epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. Am J Kidney Dis 1998;32:112-119.
8. Kasiske BL, Guijarro C, Massy ZA, Wiederkehr MR, Ma JZ: Cardiovascular disease after renal transplantation. J Am Soc Nephrol 1996;7:158-165.
9. Ross R: Atherosclerosis--an inflammatory disease. N Engl J Med 1999;340:115-126.
10. Frick MH, Elo O, Haapa K, Heinonen OP, Heinsalmi P, Helo P, Huttunen JK, Kaitaniemi P, Koskinen P, Manninen V: 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. N Engl J Med 1987;317:1237-1245.
11. Multiple Risk Factor Intervention Trial Research Group: Multiple risk factor intervention trial. Risk factor changes and mortality results. JAMA 1982;248:1465-1477.

12. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Lancet* 1994;344:1383-1389.
13. The Long-Term Intervention with Pravastatin in Ischaemic Disease (LIPID) Study Group: Prevention of Cardiovascular Events and Death with Pravastatin in Patients with Coronary Heart Disease and a Broad Range of Initial Cholesterol Levels. *N Engl J Med* 1998; 339:1349-1357.
14. Berliner JA, Heinecke JW: The role of oxidized lipoproteins in atherogenesis. *Free Radic Biol Med* 1996;20:707-727.
15. Libby P: Lipid-lowering therapy stabilizes plaque, reduces events by limiting inflammation. *Am J Manag Care* 2002;Suppl:1,4.
16. Ikeda U: Inflammation and coronary artery disease. *Curr Vasc Pharmacol* 2003;1:65-70.
17. Cashin-Hemphill L, Krams DM, Azen SP, DeMets D, DeBoer LW, Hwang I, Vailas L, Hirsch LJ, Mack WJ, DeBoer L: The Monitored Atherosclerosis Regression Study (MARS). *J Curr Clin Trials* 1992; No26.
18. Brown BG, Hillger L, Zhao XQ, Poulin D, Albers JJ: Types of change in coronary stenosis severity and their relative importance in overall progression and regression of coronary disease. Observations from the FATS Trial. Familial Atherosclerosis Treatment Study. *Ann N Y Acad Sci* 1995;748:407-417.
19. Sarnak MJ, Levey AS, Schoolwerth AC, Coresh J, Culleton B, Hamm LL, McCullough PA, Kasiske BL, Kelepouris E, Klag MJ, Parfrey P, Pfeffer M, Raij L, Spinosa DJ, Wilson PW: Kidney disease as a risk factor for development of cardiovascular disease: a statement from the American Heart Association Councils on Kidney in Cardiovascular Disease, High Blood Pressure Research, Clinical Cardiology, and Epidemiology and Prevention. *Circulation* 2003; 108:2154-2169.
20. Muntner P, He J, Hamm L, Loria C, Whelton PK: Renal insufficiency and subsequent death resulting from cardiovascular disease in the United States. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13:745-753.
21. Drey N, Roderick P, Mullee M, Rogerson M: A population-based study of the incidence and outcomes of diagnosed chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2003; 42:677-684.
22. Axelsson J, Stenvinkel P: Role of fat mass and adipokines in chronic kidney disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2008;17:25-31.
23. Zoccali C, Mallamaci F, Tripepi G: Novel cardiovascular risk factors in end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol* 2004;15:S77-80.



24. Okubo K, Hayashi K, Wakino S, Matsuda H, Kubota E, Honda M, Tokuyama H, Yamamoto T, Kajiya F, Saruta T: Role of asymmetrical dimethylarginine in renal microvascular endothelial dysfunction in chronic renal failure with hypertension. *Hypertens Res* 2005;28:181-189.
25. Mathur S, Devaraj S, Jialal I: Accelerated atherosclerosis, dyslipidemia, and oxidative stress in end-stage renal disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2002;11:141-147.
26. Burst V, Benzing T: Dyslipidemia treatment and cardiovascular disease in the renal patient. *Curr Pharm Des* 2011;17:894-907.
27. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. *JAMA* 2001;285:2486-2497.
28. Clarke R, Lewington S, Landray M: Homocysteine, renal function, and risk of cardiovascular disease. *Kidney Int Suppl* 2003;84:S131-133.
29. Lawrence de Koning AB, Werstuck GH, Zhou J, Austin RC: Hyperhomocysteinemia and its role in the development of atherosclerosis. *Clin Biochem* 2003;36:431-441.
30. Jakubowski H: The molecular basis of homocysteine thiolactone-mediated vascular disease. *Clin Chem Lab Med* 2007;45:1704-1716.
31. Kang SS, Wong PW, Malinow MR: Hyperhomocysteinemia as a risk factor for occlusive vascular disease. *Ann Rev Nutr* 1992;12:279-298.
32. Brattström L, Tengborn L, Lagerstedt C, Israelsson B, Hultberg B: Plasma homocysteine in venous thromboembolism. *Haemostasis* 1991;21:51-57.
33. Welch GN, Loscalzo J: Homocysteine and atherothrombosis. *N Engl J Med* 1998;338:1042-1049.
34. Bernát SI, Pongrácz E, Gonda F: Homocystein és arteriosclerosis. *Cardiologia Hungarica* 2001;4:315–319.
35. Mackness B, Mackness M: Anti-inflammatory properties of paraoxonase-1 in atherosclerosis. *Adv Exp Med Biol* 2010;660:143-151.
36. Amann K, Tyralla K, Gross ML, Eifert T, Adamczak M, Ritz E: Special characteristics of atherosclerosis in chronic renal failure. *Clin Nephrol* 2003;60:13-21.
37. Morena M, Cristol JP, Dantoine T, Carbonneau MA, Descomps B, Canaud B: Protective effects of high-density lipoprotein against oxidative stress are impaired in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2000;15:389-395.

38. Barn K, Laftavi M, Pierce D, Ying C, Boden WE, Pankewycz O: Low levels of high-density lipoprotein cholesterol: an independent risk factor for late adverse cardiovascular events in renal transplant recipients. *Transpl Int* 2010;23:574-579.
39. Mackness MI, Mackness B, Durrington PN, Fogelman AM, Berliner J, Lusis AJ, Navab M, Shih D, Fonarow GC: Paraoxonase and coronary heart disease. *Curr Opin Lipidol* 1998;9:319-324.
40. Bergmeier C, Siekmeier R, Gross W: Distribution spectrum of paraoxonase activity in HDL fractions. *Clin Chem* 2004;50:2309-2315.
41. Reddy ST, Devarajan A, Bourquard N, Shih D, Fogelman AM: Is it just paraoxonase 1 or are other members of the paraoxonase gene family implicated in atherosclerosis? *Curr Opin Lipidol* 2008;19:405-408.
42. Dantoine TF, Debord J, Charmes JP, Merle L, Marquet P, Lachatre G, Leroux-Robert C: Decrease of serum paraoxonase activity in chronic renal failure. *J Am Soc Nephrol* 1998 Nov;9(11):2082-2088.
43. Mackness MI, Arrol S, Durrington PN: Paraoxonase prevents accumulation of lipoperoxides in low-density lipoprotein. *FEBS Lett* 1991;286:152-154.
44. Mackness MI, Durrington PN: HDL, its enzymes and its potential to influence lipid peroxidation. *Atherosclerosis* 1995;115:243-253.
45. Imai Y, Morita H, Kurihara H, Sugiyama T, Kato N, Ebihara A, Hamada C, Kurihara Y, Shindo T, Oh-hashii Y, Yazaki Y: Evidence for association between paraoxonase gene polymorphisms and atherosclerotic diseases. *Atherosclerosis* 2000;149:435-442.
46. Akcay AB, Camsarı A, Ozcan T, Cicek D, Akkus N, Seyis S, Cimen B, Celebi B, Döven O, Cın G: The relationship between paraoxonase-1 activity and coronary artery disease in patients with metabolic syndrome. *Turk Kardiyol Dern Ars* 2011;39:371-377.
47. Van Lenten BJ, Wagner AC, Navab M, Fogelman AM: Oxidized phospholipids induce changes in hepatic paraoxonase and ApoJ but not monocyte chemoattractant protein-1 via interleukin-6. *J Biol Chem* 2001;276:1923-1929.
48. Mackness M, Boullier A, Hennuyer N, Mackness B, Hall M, Tailleux A, Duriez P, Delfly B, Durrington P, Fruchart JC, Duverger N, Caillaud JM, Castro G: Paraoxonase activity is reduced by a pro-atherosclerotic diet in rabbits. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;269:232-236.
49. James RW, Leviev I, Righetti A: Smoking is associated with reduced serum paraoxonase activity and concentration in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2000;101:2252-2257.

50. Sözmen EY, Mackness B, Sözmen B, Durrington P, Girgin FK, Aslan L, Mackness M: Effect of organophosphate intoxication on human serum paraoxonase. *Hum Exp Toxicol* 2002;21:247-252.
51. Sentí M, Tomas M, Vila J, Marrugat J, Elosua R, Sala J, Masia R: Relationship of age-related myocardial infarction risk and Gln/Arg 192 variants of the human paraoxonase1 gene: the REGICOR study. *Atherosclerosis* 2001;156:443-449.
52. Aviram M, Dornfeld L, Rosenblat M, Volkova N, Kaplan M, Coleman R, Hayek T, Presser D, Fuhrman B: Pomegranate juice consumption reduces oxidative stress, atherogenic modifications to LDL, and platelet aggregation: studies in humans and in atherosclerotic apolipoprotein E-deficient mice. *Am J Clin Nutr* 2000;71:1062-1076.
53. Kudchodkar BJ, Lacko AG, Dory L, Fungwe TV: Dietary fat modulates serum paraoxonase 1 activity in rats. *J Nutr* 2000;130:2427-2433.
54. Van der Gaag MS, Van Tol A, Scheek LM, James RW, Urgert R, Schaafsma G, Hendriks HF: Daily moderate alcohol consumption increases serum paraoxonase activity; a diet-controlled, randomised intervention study in middle-aged men. *Atherosclerosis* 1999;147:405-410.
55. Costa LG, Vitalone A, Cole TB, Furlong CE: Modulation of paraoxonase (PON1) activity. *Biochem Pharmacol* 2005;69:541-550.
56. Aviram M, Rosenblat M, Bisgaier CL, Newton RS: Atorvastatin and gemfibrozil metabolites, but not the parent drugs, are potent antioxidants against lipoprotein oxidation. *Atherosclerosis* 1998;138:271-280.
57. Tomas M, Sentí M, García-Faria F, Vila J, Torrents A, Covas M, Marrugat J: Effect of simvastatin therapy on paraoxonase activity and related lipoproteins in familial hypercholesterolemic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:2113-2119.
58. Pasdar A, Ross-Adams H, Cumming A, Cheung J, Whalley L, St Clair D, MacLeod MJ: Paraoxonase gene polymorphisms and haplotype analysis in a stroke population. *BMC Med Genet* 2006;7:28.
59. Ferré N, Camps J, Cabré M, Paul A, Joven J: Hepatic paraoxonase activity alterations and free radical production in rats with experimental cirrhosis. *Metabolism* 2001;50:997-1000.
60. Ferré N, Camps J, Prats E, Vilella E, Paul A, Figuera L, Joven J: Serum paraoxonase activity: a new additional test for the improved evaluation of chronic liver damage. *Clin Chem* 2002;48:261-268.
61. Dantoine TF, Drouet M, Debord J, Merle L, Cogne M, Charmes JP: Paraoxonase 1 192/55 gene polymorphisms in Alzheimer's disease. *Ann N Y Acad Sci* 2002;977:239-244.

62. Akcay MN, Yilmaz I, Polat MF, Akcay G: Serum paraoxonase levels in gastric cancer. *Hepatogastroenterology* 2003;50:Suppl 2.
63. Hasselwander O, McMaster D, Fogarty DG, Maxwell AP, Nicholls DP, Young IS: Serum paraoxonase and platelet-activating factor acetylhydrolase in chronic renal failure. *Clin Chem* 1998;44:179-181.
64. Paragh G, Asztalos L, Seres I, Balogh Z, Lőcsey L, Kárpáti I, Mátyus J, Katona E, Harangi M, Kakuk G: Serum paraoxonase activity changes in uremic and kidney-transplanted patients. *Nephron* 1999;83:126-131.
65. Schiavon R, De Fanti E, Giavarina D, Biasioli S, Cavalcanti G, Guidi G: Serum paraoxonase activity is decreased in uremic patients. *Clin Chim Acta* 1996;247:71-80.
66. Dirican M, Sarandol E, Serdar Z, Ocak N, Dilek K: Oxidative status and prevalent cardiovascular disease in patients with chronic renal failure treated by hemodialysis. *Clin Nephrol* 2007;68:144-150.
67. Ikeda Y, Suehiro T, Itahara T, Inui Y, Chikazawa H, Inoue M, Arii K, Hashimoto K: Human serum paraoxonase concentration predicts cardiovascular mortality in hemodialysis patients. *Clin Nephrol* 2007;67:358-365.
68. La Du BN, Eckerson HW: The polymorphic paraoxonase/arylesterase isozymes of human serum. *Fed Proc.* 1984;43:2338-2341.
69. Ferré N, Camps J, Fernández-Ballart J, Arijá V, Murphy MM, Ceruelo S, Biarnés E, Vilella E, Tous M, Joven J: Regulation of serum paraoxonase activity by genetic, nutritional, and lifestyle factors in the general population. *Clin Chem* 2003;49:1491-1497.
70. Paragh G, Seres I, Harangi M, Pocsai Z, Asztalos L, Locsey L, Szeles G, Kardos L, Varga E, Karpáti I, Adany R: Discordance in human paraoxonase-1 gene between phenotypes and genotypes in chronic kidney disease. *Nephron Clin Pract* 2009;113:46-53.
71. Dirican M, Akca R, Sarandol E, Dilek K: Serum paraoxonase activity in uremic predialysis and hemodialysis patients. *J Nephrol* 2004;17:813-818.
72. Itahara T, Suehiro T, Ikeda Y, Inoue M, Nakamura T, Kumon Y, Kawada M, Hashimoto K: Serum paraoxonase and arylesterase activities in hemodialysis patients. *J Atheroscler Thromb* 2000;7:152-158.
73. Suehiro T, Ikeda Y, Shiinoki T, Inoue M, Kumon Y, Itahara T, Hashimoto K: Serum paraoxonase (PON1) concentration in patients undergoing hemodialysis. *J Atheroscler Thromb* 2002;9:133-138.

74. Vincent-Viry M, Sass C, Bastien S, Aguilon D, Siest G, Visvikis S: PON1-192 phenotype and genotype assessments in 918 subjects of the Stanislas cohort study. *Clin Chem Lab Med* 2003;41:535-540.
75. Billecke S, Draganov D, Counsell R, Stetson P, Watson C, Hsu C, La Du BN: Human serum paraoxonase (PON1) isozymes Q and R hydrolyze lactones and cyclic carbonate esters. *Drug Metab Dispos* 2000;28:1335-1342.
76. Jakubowski H: Homocysteine thiolactone: metabolic origin and protein homocysteinylation in humans. *J Nutr* 2000;130:377-381.
77. Jakubowski H: Calcium-dependent human serum homocysteine thiolactone hydrolase. A protective mechanism against protein N-homocysteinylation. *J Biol Chem* 2000;275:3957-3962.
78. Draganov DI, Teiber JF, Speelman A, Osawa Y, Sunahara R, La Du BN: Human paraoxonases (PON1, PON2 and PON3) are lactonases with overlapping and distinct substrate specificities. *J Lipid Res* 2005;46:1239-1247.
79. Jakubowski H: Metabolism of homocysteine thiolactone in human cell cultures. Possible mechanism for pathological consequences of elevated homocysteine levels. *J Biol Chem* 1997;272:1935 -1942.
80. Ferretti G, Bacchetti T, Marotti E, Curatola G: Effect of homocysteinylation on human high-density lipoproteins: a correlation with paraoxonase activity. *Metabolism* 2003;52:146-151.
81. Koubaa N, Nakbi A, Hammami S, Attia N, Mehri S, Hamda KB, Farhat MB, Miled A, Hammami M: Association of homocysteine thiolactonase activity and PON1 polymorphisms with the severity of acute coronary syndrome. *Clin Biochem* 2009;42:771-776.
82. Domagala TB, Lacinski M, Trzeciak WH, Mackness B, Mackness MI, Jakubowski H: The correlation of homocysteine-thiolactonase activity of the paraoxonase (PON1) protein with coronary heart disease status. *Cell Mol Biol* 2006;52:4-10.
83. Weijun G, Juming L, Guoqing Y, Jingtao D, Qinghua G, Yiming M, Changyu P: Effects of plasma homocysteine levels on serum HTase/PON activity in patients with type 2 diabetes. *Adv Ther* 2008;25:884-893.
84. Lakshman MR, Gottipati CS, Narasimhan SJ, Munoz J, Marmillot P, Nylen ES: Inverse correlation of serum paraoxonase and homocysteine thiolactonase activities and antioxidant capacity of high-density lipoprotein with the severity of cardiovascular disease in persons with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism* 2006;55:1201-1206.

85. Lacinski M, Skorupski W, Cieslinski A, Sokolowska J, Trzeciak WH, Jakubowski H: Determinants of homocysteine-thiolactonase activity of the paraoxonase-1 (PON1) protein in humans. *Cell Mol Biol* 2004;50:885-893.
86. Kosaka T, Yamaguchi M, Motomura T, Mizuno K: Investigation of the relationship between atherosclerosis and paraoxonase or homocysteine thiolactonase activity in patients with type 2 diabetes mellitus using a commercially available assay. *Clin Chim Acta* 2005;359:156-162.
87. Brunini TM, Moss MB, Siqueira MA, Santos SF, Lugon JR, Mendes-Ribeiro AC: Nitric oxide, malnutrition and chronic renal failure. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem* 2007;5:155-161.
88. Matsuguma K, Ueda S, Yamagishi S, Matsumoto Y, Kaneyuki U, Shibata R, Fujimura T, Matsuoka H, Kimoto M, Kato S, Imaizumi T, Okuda S: Molecular mechanism for elevation of asymmetric dimethylarginine and its role for hypertension in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2006;17:2176-2183.
89. Ilhan N, Seckin D, Ilhan N, Ozbay Y: Abnormal asymmetric dimethylarginine/nitric oxide balance in patients with documented coronary artery disease: relation to renal function and homocysteine. *J Thromb Thrombolysis* 2007;23:205-211.
90. Krzyzanowska K, Mittermayer F, Krugluger W, Schnack C, Hofer M, Wolzt M, Schernthaner G: Asymmetric dimethylarginine is associated with macrovascular disease and total homocysteine in patients with type 2 diabetes. *Atherosclerosis* 2006;189:236-240.
91. Chang JW, Lee EK, Kim TH, Min WK, Chun S, Lee KU, Kim SB, Park JS: Effects of alpha-lipoic acid on the plasma levels of asymmetric dimethylarginine in diabetic end-stage renal disease patients on hemodialysis: a pilot study. *Am J Nephrol* 2007;27:70-74.
92. Boger RH, Bode-Böger SM, Frölich JC: The L-arginine – nitric oxide pathway: Role in atherosclerosis and therapeutic implications. *Atherosclerosis* 1996;127:1-11.
93. Yoo JH, Lee SC: Elevated levels of plasma homocyst(e)ine and asymmetric dimethylarginine in elderly patients with stroke. *Atherosclerosis* 2001;158:425-430.
94. Boger RH: The emerging role of asymmetric dimethylarginine as a novel cardiovascular risk factor. *Cardiovasc Res* 2003;59:824-833.
95. Kumagai H, Sakurai M, Takita T, Maruyama Y, Uno S, Ikegaya N, Kato A, Hishida A: Association of homocysteine and asymmetric dimethylarginine with atherosclerosis and cardiovascular events in maintenance hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2006;48:797-805.

96. Soveri I, Linda L, Wikström B, Zilmerd M, Zilmerd K, Fellström B: Improvement in during Hemodialysis Is Related to a Reduction in Asymmetric Dimethylarginine (ADMA) Levels. *Nephron Clin Pract* 2007;106:180-186.
97. Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S: Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet* 1992; 339:572-575.
98. Lentz SR, Rodionov RN, Dayal S: Hyperhomocysteinemia, endothelial dysfunction, and cardiovascular risk: the potential role of ADMA. *Atheroscler Suppl* 2003;4:61-65.
99. Paroni R, Fermo I, Fiorina P, Cighetti G: Determination of asymmetric and symmetric dimethylarginines in plasma of hyperhomocysteinemic subjects. *Amino Acids* 2005;28:389-394.
100. Boger RH, Lentz SR, Bode-Boger SM, Knapp HR, Haynes WG: Elevation of asymmetrical dimethylarginine may mediate endothelial dysfunction during experimental hyperhomocyst(e)inaemia in humans. *Clin Sci* 2001;100:161-167.
101. Leiper J, Vallance P: Biological significance of endogenous methylarginines that inhibit nitric oxide synthases. *Cardiovasc Res* 1999;43:542-548.
102. Abbasi F, Asagmi T, Cooke JP, Lamendola C, McLaughlin T, Reaven GM, Stuehlinger M, Tsao PS: Plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine are increased in patients with type 2 diabetes mellitus. *Am J Cardiol* 2001;88:1201-1203.
103. Boger RH, Sydow K, Borlak J, Thum T, Lenzen H, Schubert B, Tsikas D, Bode-Böger SM: LDL cholesterol upregulates synthesis of asymmetrical dimethylarginine in human endothelial cells: involvement of S-adenosylmethionine-dependent methyltransferases. *Circ Res* 2000;87:99-105.
104. Miyazaki H, Matsuoka H, Cooke JP, Usui M, Ueda S, Okuda S, Imaizumi T: Endogenous nitric oxide synthase inhibitor: a novel marker of atherosclerosis. *Circulation* 1999;99:1141-1146.
105. Gorenflo M, Zheng C, Werle E, Fiehn W, Ulmer HE: Plasma levels of asymmetrical dimethyl-L-arginine in patients with congenital heart disease and pulmonary hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 2001;37:489-492.
106. Fleck C, Schweitzer F, Karge E, Busch M, Stein G: Serum concentrations of asymmetric (ADMA) and symmetric (SDMA) dimethylarginine in patients with chronic kidney diseases. *Clin Chim Acta* 2003;336:1-12.
107. Okubo K, Hayashi K, Wakino S, Matsuda H, Kubota E, Honda M, Tokuyama H, Yamamoto T, Kajiya F, Saruta T: Role of asymmetrical dimethylarginine in renal microvascular endothelial dysfunction in chronic renal failure with hypertension. *Hypertens Res* 2005;28:181-189.

108. Considine RV: Human leptin: an adipocyte hormone with weight-regulatory and endocrine functions. *Semin Vasc Med* 2005;5:15-24.
109. Houseknecht KL, Baile CA, Matteri RL, Spurlock ME: The biology of leptin: a review. *J Anim Sci* 1998;76:1405-1420.
110. Sinha MK, Caro JF: Clinical aspects of leptin. *Vitam Horm* 1998;54:1-30.
111. Korda M, Kubant R, Patton S, Malinski T: Leptin-induced endothelial dysfunction in obesity. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008;295:1514-1521.
112. Axelsson J, Stenvinkel P: Role of fat mass and adipokines in chronic kidney disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2008;17:25-31.
113. Yilmaz A, Kayardi M, Icagasioglu S, Candan F, Nur N, Gültekin F: Relationship between serum leptin levels and body composition and markers of malnutrition in nondiabetic patients on peritoneal dialysis or hemodialysis. *J Chin Med Assoc* 2005;68:566-570.
114. Varga Z, Paragh G, Seres I, Kakuk G, Karanyi Z, Karpati I, Matyus J, Csongradi E, Juhasz A, Balla J, Bajnok L: Hyperleptinemia is not responsible for decreased paraoxonase activity in hemodialysis patients. *Nephron Clin Pract* 2006;103:114-120.
115. Nelson DL, Cox MM: *Lehninger: Principles of Biochemistry*, Fourth Edition W. H. Freeman and Company, New York 2005.
116. Fu Y, Luo N, Klein RL, Garvey WT: Adiponectin promotes adipocyte differentiation, insulin sensitivity, and lipid accumulation. *J Lipid Res* 2005;46:1369-1379.
117. Axelsson J: Obesity in chronic kidney disease: good or bad? *Blood Purif* 2008;26:23-29.
118. Axelsson J, Heimbürger O, Stenvinkel P: Adipose tissue and inflammation in chronic kidney disease. *Contrib Nephrol* 2006;151:165-174.
119. Shen YY, Charlesworth JA, Kelly JJ, Peake PW: The effect of renal transplantation on adiponectin and its isoforms and receptors. *Metabolism* 2007;56:1201-1208.
120. Souza GC, Costa CA, Gonçalves LF, Manfro RC: Leptin serum levels in the first year post-renal transplantation. *Transplant Proc* 2007;39:439-440.
121. Chudek J, Adamczak M, Karkoszka H, Budziński G, Ignacy W, Funahashi T, Matsuzawa Y, Cierpka L, Kokot F, Wiecek A: Plasma adiponectin concentration before and after successful kidney transplantation. *Transplant Proc* 2003;35:2186-2189.
122. Bajnok L, Csongradi E, Seres I, Varga Z, Jeges S, Peti A, Karanyi Z, Juhasz A, Mezosi E, Nagy EV, Paragh G: Relationship of adiponectin to serum paraoxonase 1. *Atherosclerosis* 2008;197:363-367.



123. Saito O, Saito T, Okuda K, Okuda K, Kotoda A, Akimoto T, Ando Y, Muto S, Ishikawa SE, Kusano E: Serum adiponectin and markers of endothelial injury in hemodialysis patients with arteriosclerosis obliterans. *Clin Exp Nephrol* 2008;12:58-64.
124. Bayés B, Granada ML, Pastor MC, Lauzurica R, Salinas I, Sanmartí A, Espinal A, Serra A, Navarro M, Bonal J, Romero R: Obesity, adiponectin and inflammation as predictors of new-onset diabetes mellitus after kidney transplantation. *Am J Transplant* 2007;7:416-422.
125. Goldwasser P, Mittman N, Antignani A, Burrell D, Michel MA, Collier J, Avram MM: Predictors of mortality in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 1993;3:1613-1622.
126. Castaneda-Sceppa C, Sarnak MJ, Wang X, Greene T, Madero M, Kusek JW, Beck G, Kopple JD, Levey AS, Menon V: Role of adipose tissue in determining muscle mass in patients with chronic kidney disease. *J Ren Nutr* 2007;17:314-322.
127. Tonbul HZ, Demir M, Altintepe L, Güney I, Ekrem Y, Türk S, Yeksan M, Yildiz A: Malnutrition-inflammation-atherosclerosis (MIA) syndrome components in hemodialysis and peritoneal dialysis patients. *Ren Fail* 2006;28:287-294.
128. Qureshi AR, Alvestrand A, Danielsson A, Divino-Filho JC, Gutierrez A, Lindholm B, Bergström J: Factors predicting malnutrition in hemodialysis patients: a cross-sectional study. *Kidney Int* 1998;53:773-782.
129. Kaysen GA, Stevenson FT, Depner TA: Determinants of albumin concentration in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1997;29:658-668.
130. Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH: Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med* 1997;336:973-979.
131. Stenvinkel P, Heimbürger O, Tuck CH, Berglund L: Apo(a)-isoform size, nutritional status and inflammatory markers in chronic renal failure. *Kidney Int* 1998;53:1336-1342.
132. Cohen SD, Kimmel PL: Nutritional status, psychological issues and survival in hemodialysis patients. *Contrib Nephrol* 2007;155:1-17.
133. Nishizawa Y, Shoji T, Ishimura E: Body composition and cardiovascular risk in hemodialysis patients. *J Ren Nutr* 2006;16:241-244.
134. Kalantar-Zadeh K, Kilpatrick RD, McAllister CJ, Greenland S, Kopple JD: Reverse epidemiology of hypertension and cardiovascular death in the hemodialysis population: the 58th annual fall conference and scientific sessions. *Hypertension* 2005;45:811-817.

135. Shoji T, Shinohara K, Hatsuda S, Kimoto E, Fukumoto S, Emoto M, Tahara H, Koyama H, Ishimura E, Miki T, Tabata T, Nishizawa Y: Altered relationship between body fat and plasma adiponectin in end-stage renal disease. *Metabolism* 2005;54:330-334.
136. Araújo IC, Kamimura MA, Draibe SA, Canziani ME, Manfredi SR, Avesani CM, Sesso R, Cuppari L: Nutritional parameters and mortality in incident hemodialysis patients. *J Ren Nutr* 2006;16:27-35.
137. Kalaitzidis RG, Siamopoulos KC: The role of obesity in kidney disease: recent findings and potential mechanisms. *Int Urol Nephrol* 2011;43:771-784.
138. Feldman AM, Combes A, Wagner D, Kadakomi T, Kubota T, Li YY, McTiernan C: The role of tumor necrosis factor in the pathophysiology of heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2000;35:537-544.
139. Bergström J, Lindholm B: Nutrition and adequacy of dialysis. How do hemodialysis and CAPD compare? *Kidney Int Suppl* 1993;40:39-50.
140. DeLong DM, DeLong ER, Wood PD, Lippel K, Rifkind BM: A comparison of methods for the estimation of plasma low- and very low-density lipoprotein cholesterol. The Lipid Research Clinics Prevalence Study. *JAMA* 1986;256:2372-2377.
141. Eckerson HW, Romson J, Wyte C, La Du BN: The human serum paraoxonase polymorphism: identification of phenotypes by their response to salts. *Am J Hum Genet* 1983;35:214-227.
142. Ellman GL, Courtney KD, Andres VJ, Feather-Stone RM: A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol* 1961;7:88-95.
143. Pocsai Z, Tóth Z, Paragh G, Széles G, Ádány R: Rapid genotyping of paraoxonase 55 and 192 mutations by melting point analysis using real time PCR technology. *Clin Chim Acta* 2003;332:31-36.
144. Akhmedova SN, Yakimovsky AK, Schwartz EI: Paraoxonase 1 Met-Leu 54 polymorphism is associated with Parkinson's disease. *J Neurol Sci* 2001;184:179-182.
145. Rainwater DL, Rutherford S, Dyer TD, Rainwater ED, Cole SA, Vandeberg JL, Almasy L, Blangero J, Maccluer JW, Mahaney MC: Determinants of variation in human serum paraoxonase activity. *Heredity* 2009;102:147-154.
146. Paragh G, Seres I, Balogh Z, Varga Z, Kárpáti I, Mátyus J, Ujhelyi L, Kakuk G: The serum paraoxonase activity in patients with chronic renal failure and hyperlipidemia. *Nephron* 1998;80:166-170.

147. Gan KN, Smolen A, Eckerson HW, La Du BN: Purification of human serum paraoxonase/arylesterase. Evidence for one esterase catalyzing both activities. *Drug Metab Dispos* 1991;19:100-106.
148. Hojs R, Bevc S, Ekart R, Gorenjak M, Puklavec L: Serum cystatin C as an endogenous marker of renal function in patients with chronic kidney disease. *Ren Fail* 2008;30:181-186.
149. Baylis C: Arginine, arginine analogs and nitric oxide production in chronic kidney disease. *Nat Clin Pract Nephrol* 2006;2:209-220.
150. Sydow K, Münzel T: ADMA and oxidative stress. *Atheroscler Suppl* 2003;4:41-51.
151. Zoccali C, Bode-Böger S, Mallamaci F, Benedetto F, Tripepi G, Malatino L, Cataliotti A, Bellanuova I, Fermo I, Frölich J, Böger R: Plasma concentration of asymmetrical dimethylarginine and mortality in patients with end-stage renal disease: a prospective study. *Lancet* 2001;358:2113-2117.
152. Gupta A, Robinson K: Hyperhomocysteinaemia and end stage renal disease. *J Nephrol* 1997;10:77-84.
153. Kerkeni M, Addad F, Chauffert M, Chuniaud L, Miled A, Trivin F, Maaroufi K: Hyperhomocysteinemia, paraoxonase activity and risk of coronary artery disease. *Clin Biochem* 2006;39:821-825.
154. 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. *Dis Markers* 2009;26:141-148.
155. Lakshman MR, Gottipati CS, Narasimhan SJ, Munoz J, Marmillot P, Nylen ES: Inverse correlation of serum paraoxonase and homocysteine thiolactonase activities and antioxidant capacity of high-density lipoprotein with the severity of cardiovascular disease in persons with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism* 2006;55:1201-1206.
156. Sztanek F, Seres I, Harangi M, Locsey 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. *Nephrol Dial Transplant* 2012;27:2866-2872.
157. Hall JE, Crook ED, Jones DW, Wofford MR, Dubbert PM: Mechanisms of obesity-associated cardiovascular and renal disease. *Am J Med Sci* 2002;324:127-137.
158. Kramer HJ, Saranathan A, Luke A, Durazo-Arvizu RA, Guichan C, Hou S, Cooper R: Increasing body mass index and obesity in the incident ESRD population. *J Am Soc Nephrol* 2006;17:1453-1459.

159. Friedman AN, Yu Z, Juliar BE, Nguyen JT, Strother M, Quinney SK, Li L, Inman M, Gomez G, Shihabi Z, Moe S: Independent influence of dietary protein on markers of kidney function and disease in obesity. *Kidney Int* 2010;78:693-697.
160. Bouillanne O, Hay P, Liabaud B, Duché C, Cynober L, Aussel C: Evidence that albumin is not a suitable marker of body composition-related nutritional status in elderly patients. *Nutrition* 2011;27:165-169.
161. Colman S, Bross R, Benner D, Chow J, Braglia A, Arzaghi J, Dennis J, Martinez L, Baldo DB, Agarwal V, Trundnowski T, Zitterkoph J, Martinez B, Khawar OS, Kalantar-Zadeh K: The Nutritional and Inflammatory Evaluation in Dialysis patients (NIED) study: overview of the NIED study and the role of dietitians. *J Ren Nutr* 2005;15:231-243.
162. Kalantar-Zadeh K, Block G, Horwich T, Fonarow GC: Reverse epidemiology of conventional cardiovascular risk factors in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2004;43:1439-1444.
163. Shoji T, Shinohara K, Hatsuda S, Kimoto E, Fukumoto S, Emoto M, Tahara H, Koyama H, Ishimura E, Miki T, Tabata T, Nishizawa Y: Altered relationship between body fat and plasma adiponectin in end-stage renal disease. *Metabolism* 2005;54:330-334.
164. Santoro D, Bellinghieri G, Conti G, Pazzano D, Satta E, Costantino G, Savica V: Endothelial dysfunction in chronic renal failure. *J Ren Nutr* 2010;20:103-108.
165. Ishimura E, Okuno S, Tsuboniwa N, Shoji S, Yamakawa T, Nishizawa Y, Inaba M: Relationship between fat mass and serum high-sensitivity C-reactive protein levels in prevalent hemodialysis patients. *Nephron Clin Pract* 2011;119:283-288.
166. Zhao Y, Ma Y, Fang Y, Liu L, Wu S, Fu D, Wang X: Association between PON1 activity and coronary heart disease risk: a meta-analysis based on 43 studies. *Mol Genet Metab* 2012;105:141-148.
167. Gbandjaba NY, Ghalim N, Hassar M, Berrougui H, Labrazi H, Taki H, Saile R, Khalil A: Paraoxonase activity in healthy, diabetic, and hemodialysis patients. *Clin Biochem* 2012;45:470-474.
168. Sztanek F, Seres I, Harangi M, Lőcsey L, Koncsos P, Paragh G: Effect of Nutritional Status on Human Paraoxonase-1 Activity in Patients with Chronic Kidney Disease. *Kidney Blood Press Res* 2012;36:310-319.

Iktatószám: DEENKÉTK/77/2013.  
Tételszám:  
Tárgy: Ph.D. publikációs lista

Jelölt: Sztanek Ferenc

Neptun kód: HN630D

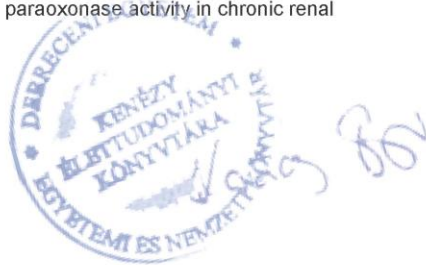
Doktori Iskola: Egészségtudományok Doktori Iskola

### A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Sztanek, F.**, Seres, I., Harangi, M., Lőcsey, L., Padra, J.T., jr. Paragh, G., Asztalos, L., Paragh, G.:  
Decreased human paraoxonase-1 (PON1) lactonase activity in hemodialyzed and renal  
transplanted patients. A novel cardiovascular biomarker in end-stage renal disease.  
*Nephrol. Dial. Transplant.* 27 (7), 2866-2872, 2012.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/ndt/gfr753>  
IF:3.396 (2011)
2. **Sztanek, F.**, Seres, I., Harangi, M., Lőcsey, L., Koncsos, P., Paragh, G.: Effect of nutritional status on  
human paraoxonase-1 activity in patients with chronic kidney disease.  
*Kidney Blood Press. Res.* 36 (1), 310-319, 2012.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1159/000343383>  
IF:1.464 (2011)

### További Közlemények

3. Varga, É., Seres, I., Harangi, M., Kárpáti, I., Koncsos, P., **Sztanek, F.**, Paragh, G.: Low high-density  
lipoprotein cholesterol is not responsible for decreased paraoxonase activity in chronic renal  
failure.  
*Kidney Blood Press. Res.* 35 (4), 265-272, 2012.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1159/000334650>  
IF:1.464 (2011)



4. Paragh G., **Sztanek F.**, Harangi M.: A triglicerid metabolizmus.  
*Metabolizmus*. 9 (4), 214-217, 2011.
5. 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.  
*Adv. Exp. Med. Biol.* 660, 129-142, 2010.  
DOI: [http://dx.doi.org/10.1007/978-1-60761-350-3\\_12](http://dx.doi.org/10.1007/978-1-60761-350-3_12)  
IF:1.379
6. Harangi, M., Mirdamadi, H.Z., 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.* 153 (4), 190-198, 2009.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.trsl.2009.01.007>  
IF:2.062
7. Paragh G., **Sztanek F.**, Márk L.: Reziduális rizikó és optimális lipidértékek.  
*Metabolizmus* 7 (2), 86-92, 2009.
8. Varga, É., Seres, I., Harangi, M., **Sztanek, F.**, Asztalos, L., Lőcsey, L., Borbás, B., Szegedi, J., Kárpáti, I., Paragh, G.: Serum cystatin C is a determinant of paraoxonase activity in hemodialyzed and renal transplanted patients.  
*Dis. Markers*. 26 (3), 141-148, 2009.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3233/DMA-2009-0624>  
IF:2.026
9. Lőcsey, L., Seres, I., **Sztanek, F.**, Szabó, L., Asztalos, L., Paragh, G.: Relationship between serum paraoxonase activity and adipokines levels in renal transplanted patients.  
In: XXII. International Congress of the Transplantation Society 10-14 August 2008, Sydney, Australia. [S.n.], Sydney, 5, 2008.
10. Mirdamadi, H.Z., **Sztanek, F.**, Derdák, Z., Seres, I., Harangi, M., Paragh, G.: The human paraoxonase-1 phenotype modifies the effect of statins on paraoxonase activity and lipid parameters.  
*Br. J. Clin. Pharmacol.* 66 (3), 366-374, 2008.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2125.2008.03213.x>  
IF:3.128
11. Paragh G., **Sztanek F.**, Harangi M.: A statinok Janus-arca.  
*Diabetol. Hung.* 16 (1), 35-41, 2008.



12. Harangi M., **Sztanek F.**, Paragh G.: A sztatinok és a proteinuria.  
*Hyperton. Nephrol.* 11 (5), 237-243, 2007.

13. Paragh G., **Sztanek F.**, Harangi M.: A lipidcsökkentő kezelés mai gyakorlata: Fókuszban a vesebetegségek.  
*Metabolizmus* 4, 201-205, 2007.

Összesített impakt faktor: 14.919

Összesített impakt faktor: (értekezés alapjául szolgáló közlemények esetén): 4.86

A DEENK Kenézy Élettudományi Könyvtár a Jelölt által a Publikációs Adatbázisba feltöltött adatok bibliográfiai és tudományometriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2013.02.22



## 8. Rövidítések, tárgyszavak és köszönetnyilvánítás

|          |                                            |
|----------|--------------------------------------------|
| ADMA     | aszimmetrikus dimetilarginin               |
| ANOVA    | varianciaanalízis                          |
| BMI      | testtömeg index                            |
| CAPW     | centrális artériás nyomás hullámsebesség   |
| CETP     | koleszterol észter transzfer protein       |
| hsCRP    | high sensitivity C-reaktív protein         |
| CVE      | krónikus veseelégtelenség                  |
| DDAH     | dimetilarginin dimetilaminohidroláz        |
| ESRD     | végstádiumú veseelégtelenség               |
| FPIA     | fluoreszcens polarizációs immunassay       |
| FRET     | fluoreszcens rezonancia-energiatranszfer   |
| GFR      | glomeruláris filtrációs ráta               |
| GSH      | glutathion                                 |
| HD       | hemodializált betegek                      |
| HDL      | nagy denzitású lipoprotein                 |
| HTL      | homocisztein tiolakton                     |
| ICAM     | sejtek közötti sejtadhéziós molekula       |
| LCAT     | lecitin koleszterol acil transzferáz       |
| LDL      | kis denzitású lipoprotein                  |
| MIA      | malnutríció-inflammáció-atherosclerosis    |
| NO       | nitrogén-monoxid                           |
| oxLDL    | oxidált LDL                                |
| PAFAH    | thrombocytá aktiváló faktor acetilhidroláz |
| PETIA    | nefelometriás immunoturbidimetria          |
| PON1     | humán paraoxonáz-1 enzim                   |
| PRMTs    | protein arginin metiltranszferázok         |
| ROS      | reaktív oxigén gyökök                      |
| SAH      | S-adenozil-homocisztein                    |
| SAMT     | S-adenozilmetionin metiltranszferáz        |
| SD       | standard deviáció, a minta szórása         |
| SDMA     | szimmetrikus dimetilarginin                |
| TNF-alfa | tumor necrosis faktor-alfa                 |
| TRX      | vesetranszplantált betegek                 |
| VCAM     | vaszkuláris sejtadhéziós molekulák         |



## **Tárgyszavak:**

aszimmetrikus dimetilarginin, elhízás, krónikus vesebetegség, hemodialízis, homociszteintiolakton, PON1 laktonáz, PON1 paraoxonáz, reverz epidemiológia, tápláltsági állapot, vesetranszplantáció

## **Keywords:**

asymmetric dimethylarginine, chronic kidney disease, hemodialysis, homocysteine thiolactone, nutritional state, PON1 lactonase, obesity, PON1 paraoxonase, renal transplantation, reverse epidemiology

## **Köszönetnyilvánítás:**

Köszönetemet szeretném kifejezni dr. Paragh György Professzor Úrnak, témavezetőmnek, aki lehetővé tette számomra, hogy doktori dolgozatomat a DEOEC Belgyógyászati Intézet Anyagcsere Tanszékén végezhessem. Kiemelkedően hálás köszönetemet szeretném kifejezni dr. Seres Ildikó Tudományos Főmunkatársnőnek, aki laboratóriumi és tudományos munkámat irányította, felügyelte és szüntelen támogatta. Köszönetet szeretnék mondani dr. Lőcsey Lajos Tanár Úrnak a betegek kiválasztásában és az adatok összegyűjtésében nyújtott felbecsülhetetlen segítségéért és a sok hasznos észrevételéért. Köszönetemet szeretném kifejezni dr. Harangi Mariann Adjunktusnőnek a hasznos tanácsokért és segítségért. Szeretnék köszönetet mondani a DEOEC Belgyógyászati Intézet és Anyagcsere Tanszék Kutató Laboratóriumának minden dolgozójának, a megjelent tudományos közleményeim társszerzőinek, akik segítettek és támogatták munkámat.

Vizsgálatainkat az Országos Tudományos Kutatási Alap (OTKA K84196), a TÁMOP 4.2.1./B-09/1/KONV/2010-0007 számú, a TÁMOP-4.2.2/B-10/1-2010-0024 számú és a TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0031 számú projektek támogatták. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósult meg.