

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

Dr. Juhász Lilla

**Az érfali működés egyes új markereinek összefüggése a
lipidparaméterekkel heterozigóta familiáris
hiperkoleszterinémiás betegekben**

DEBRECENI EGYETEM

EGÉSZSÉGTUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA

Debrecen, 2024

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

**Az érfali működés egyes új markereinek összefüggése a
lipidparaméterekkel heterozigóta familiáris hiperkoleszterinémias
betegekben**

Dr. Juhász Lilla

Témavezető: Prof. Dr. Harangi Mariann



DEBRECENI EGYETEM

EGÉSZSÉGTUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA

Debrecen, 2024

Tartalom

1. Bevezetés.....	8
2. Irodalmi áttekintés	9
2.1. A familiáris hiperkoleszterinémia.....	9
2.1.2. A familiáris hiperkoleszterinémia kialakulásának genetikai háttere	9
2.1.3. A familiáris hiperkoleszterinémia klinikai megjelenése és diagnosztikája	11
2.1.4. A familiáris hiperkoleszterinémia kezelése	13
2.1.5. A familiáris hiperkoleszterinémia heterogén jellege	14
2.2. HDL összetételének és funkciójának jelentősége	16
2.2.1. Az apolipoprotein M szerepe	17
2.3. A szfingozin-1-foszfát szerepe	18
2.4. A stromaeredetű faktor-1 jelentősége.....	21
2.5. Az LDL és HDL szubfrakciók meghatározása	22
3. Célkitűzések	24
4. Betegek és módszerek.....	25
4.1 Vizsgálati populáció	25
4.2 Vérvétel és laboratóriumi paraméterek mérése	25
4.3 A szfingozin-1-foszfát (S1P) szint mérése.....	26
4.4. Az apolipoprotein M (ApoM) szint mérése	26
4.5 A stromaeredetű faktor-1 (SDF-1) szint mérése.....	26
4.6 Az oxidált alacsony sűrűségű lipoprotein (oxLDL) szérum szintjének mérése	26
4.7 A szolubilis intercelluláris adhézis molekula-1 (sICAM-1), a szolubilis vaszkuláris adhézis molekula-1 (sVCAM-1), mátrix metalloproteináz-9 (MMP-9) és szolubilis CD40 ligand (sCD40L) szérum szint mérése	27
4.8 A szérum mieloperoxidáz koncentráció mérése	27
4.9. A PON1 paraoxonáz és arileszteráz aktivitások meghatározása	27
4.10. A szérum LDL és HDL szubfrakciók meghatározása poliakrilamid gélelektroforézissel.....	27
4.11. Statisztikai módszerek	28
5. Eredmények	29
5.1 A lipid szintek, gyulladáshoz és oxidatív markerek HeFH betegek és kontrollok esetén.....	29
5.2 Szérum S1P és ApoM szintek HeFH betegekben és a kontroll csoport esetén	30
5.3 Az LDL és HDL szubfrakciók szintje és aránya a HeFH betegekben és a kontrollok esetén	31
5.4 S1P szintek és HDL szubfrakciók összefüggése HeFH betegekben és a kontrollokban.....	33

5.5 Az S1P szintek és a sVCAM-1, PON1, sCD40L és a MMP-9 szintek közötti összefüggés HeFH betegekben és a kontrollok esetén.....	34
5.6 Az S1P független prediktorai	34
5.7 Az SDF-1 szintek HeFH betegekben és kontrollok esetén	35
5.8. Az SDF-1 szintek és az összkoleszterin, triglicerid, LDL-C, valamint az ApoB100 összefüggése HeFH betegekben és a kontrollok esetén	36
5.9. Az SDF-1 szint prediktorai	39
6. Az új eredmények összefoglalása	43
7. Megbeszélés.....	44
8. Összefoglalás	50
9. Summary	51
10. Tárgyszavak.....	52
11. Köszönetnyilvánítás.....	53
12. Irodalom.....	54
Saját közlemények listája	64

Rövidítések jegyzéke

ACS	akut koronária szindróma
ADH	autoszomális domináns hiperkoleszterinémia
AMI	akut miokardiális infarktus
ANGPTL3	angiopoietin-szerű 3
ApoA1	apolipoprotein A1
ApoB	apolipoprotein B
ApoB100	apolipoprotein B100
ApoCIII	apolipoprotein CIII
ApoM	apolipoprotein M
CAD	koronária betegség
CAAD	artéria carotis szűkület
CETP	koleszterin-észter transzfer protein
CRP	C reaktív protein
CV	variabilitási koefficiens
CVD	kardiovaszkuláris megbetegedés
CXC	C-X-C motif
CXCL	C-X-C motif ligand
CXCL12	C-X-C motif ligand 12
CXCR	C-X-C motif ligand receptor
CXCR4	C-X-C Motif Chemokine Receptor 4
DLCN	Dutch Lipid Clinic Network kritériumrendszer
DNS	deoxiribonukleinsav
EL	endoteliális lipáz
eNOS	endoteliális nitrogén-monoxid szintetáz
EGF	endoteliális növekedési faktor
EPC	endotel progenitor sejt
FH	familiáris hiperkoleszterinémia
GHD	növekedési hormon hiány
HL	hepatikus lipáz
HMG-KoA	3-hidroxi-3-metil-glutaril-koenzim-A
HoFH	homozigóta familiáris hiperkoleszterinémia

HDL	nagy sűrűségű lipoprotein, high-density lipoprotein
IDL	közepes sűrűségű lipoprotein
ICAM	intercelluláris adhéziós molekula
ISZB	iszkémiás szívbetegség
LCAT	lecitin koleszterin aciltranszferáz
LDL	alacsony sűrűségű lipoprotein/ low-density lipoprotein
LDL-C	alacsony sűrűségű lipoprotein-koleszterin
LDLR	alacsony sűrűségű lipoprotein receptor
LDLRAP1	alacsony sűrűségű lipoprotein adaptor protein 1
LIPC	lipáz C
LIPG	lipáz G
Lp(a)	lipoprotein (a)
LPL	lipoprotein lipáz
LPS	lipopoliszacharid
MAPK	mitogén aktivált protein kináz
MCP-1	monocita kemoattraktáns protein-1
MEDPED	Make Early Diagnosis to Prevent Early Death kritériumrendszer
mKitL	membránhoz kötött Kit ligand
MMP	mátrix metalloproteázok
MMP-9	mátrix metalloproteáz 9
MPO	mieloperoxidáz
mRNS	messenger ribonukleinsav
NADPH	nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát
NFκB	nukleáris faktor-kappa B
NO	nitrogén-monoxid
NOS	nitrogén-monoxid szintetáz
oxLDL	oxidált alacsony sűrűségű lipoprotein
PAD	perifériás artériásérbetegség
PCOS	policisztás ovárium szindróma
PCSK9	proprotein-konvertáz szubtilizin/kexin 9
PLTP	foszfolipid transzfer protein
PON1	humán paraoxonáz-1
PKC	protein kináz C
RBP	retinol kötő fehérje

SAA	szérum amiloid A
SCARBI	scavenger receptor B osztály I
S1P	szfingozin-1-foszfát
sICAM-1	szolubilis intercelluláris adhéziós molekula-1
SDF1	stromaeredetű-faktor 1/stromal cell-derived factor-1
sCD40L	szolubilis CD40 ligand
sKitL	szolubilis Kit ligand
SR-BI	scavenger receptor B I-es típus
sVCAM1	szolubilis vaszkuláris celluláris adhéziós molekula 1
TNF α	tumor nekrozis faktor-alfa
VCAM-1	vaszkuláris celluláris adhéziós molekula 1
VLDL	nagyon alacsony sűrűségű lipoprotein

1. Bevezetés

A familiáris hiperkoleszterinémia (FH) heterozigóta formája (HeFH) a leggyakoribb monogénes formában öröklődő anyagcsere betegség, melyet a születéstől kezdve jelentősen emelkedett össz- és alacsony sűrűségű lipoprotein/low-density lipoprotein koleszterin (LDL-C) szint, progresszív érlemezésedés és korai vaszkuláris szövődmények kialakulása jellemez. A klinikai megjelenést és a kardiovaszkuláris szövődmények kialakulásának kockázatát azonban számos egyéb tényező is befolyásolja, így a klinikai kép változatos, és a kardiovaszkuláris kockázatbecslés ebben a betegségben nehezített. A további genetikai eltéréseken és társbetegségeken kívül egyéb kockázati tényezőknek tekinthetők a gyulladásozó folyamatok, a trombózis készséget fokozó tényezők, a szénhidrát anyagcsere zavarai, valamint az egyéb lipoproteinek mennyiségében és minőségében bekövetkező változások. Minden olyan további tényező, mely befolyásolja az érlemezésedés kialakulását vagy progresszióját segíthet felismerni azokat a betegeket, akik különösen nagy kockázatnak vannak kitéve. Ismeretük emellett hozzájárulhat az érlemezésedés kialakulásának jobb megértéséhez. Az alacsony sűrűségű lipoprotein/high-density lipoprotein (HDL) részecske általánosságban védő hatást fejt ki az érlemezésedés kialakulásával szemben. Ennek egyik oka a HDL struktúrfehérjének egyikéhez, az apolipoprotein M (ApoM)-hez kapcsolt. Ez a fehérje főként a HDL részecskékhez asszociált, és a szfingozin-1-foszfát (S1P) bioaktív szfingolipid szállításában játszik szerepet, mely az endotel funkció megőrzéséhez járul hozzá. Az ApoM/S1P érfali működésre kifejtett hatása ugyanakkor meglehetősen komplex, és részben a gyulladásozó folyamatok által mediált. A stromaeredetű faktor-1 (SDF-1) egy konzervatív kemokin, melyet számos sejttípus, köztük az endotel termel. Az eddigi kutatások alapján az SDF-1 részt vesz az angiogenezis és az ateroszklerózis folyamatában, szintjét a lipidanyagcsere eltérései is befolyásolják. HeFH-ban az ApoM/S1P tengelyt és az SDF-1 szintjét, illetve azok összefüggéseit a lipoprotein szubfrakciókkal, a gyulladásozó markerekkel és az endotel funkcióval korábban nem vizsgálták, bár szerepük az irodalmi adatok alapján felmerül a HeFH-hoz társuló korai és súlyos lefolyású ateroszklerózis folyamatának szabályozásában. Ezen fehérjék szerepének megértése elősegítheti a kardiovaszkuláris kockázatfelmérést és esetleges jövőbeni új gyógyszeres terápiás lehetőségek feltárását.

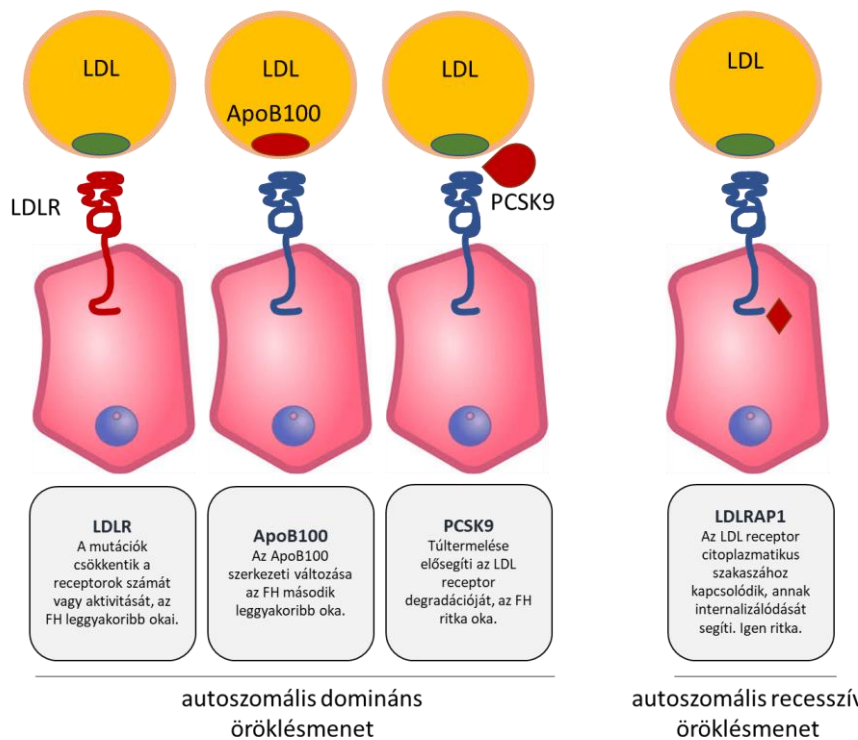
2. Irodalmi áttekintés

2.1. A familiáris hiperkoleszterinémia

A hiperkoleszterinémia hátterében gyakran valamilyen másodlagos ok, például hipotireózis, nefrózis szindróma vagy elhízás, esetleg egyes gyógyszerek szedése áll (1, 2). Más esetekben örökletes tényezők okozzák az emelkedett szérum koleszterinszintet. Ez gyakran több gén variánsainak összeadó hatásából ered, azaz poligénes eredetű, és gyakran súlyosbítják másodlagos tényezők, azonban bizonyos esetekben egyetlen gén mutációja miatt alakul ki a koleszterin anyagcsere zavara, mely formát monogénes eredetűnek nevezik (3). A monogénes eredetű hiperkoleszterinémiák közül a leggyakoribb és legnagyobb klinikai jelentőségű a familiáris hiperkoleszterinémia (FH). A hiperkoleszterinémia okának ismerete nem csak a prognózis és a szövődmények kockázata szempontjából lényeges, de meghatározó szerepe van a személyre szabott terápiás stratégia kiválasztásában, és örökletes jellege miatt lehetővé teszi a további érintett családtagok szűrését és korai, hatékony kezelésének elindítását is (4).

2.1.2. A familiáris hiperkoleszterinémia kialakulásának genetikai háttere

Az FH a monogénes anyagcsere betegségek egyik leggyakoribb formája. A betegség hátterében valamely, az LDL anyagcserében kulcsszerepet játszó fehérjét kódoló gén mutációja áll. Leggyakrabban az LDL felvételéért felelős LDL receptor génjében észlelnek funkcióvesztő mutációt. A második leggyakoribb ok az LDL receptor ligandjának, az Apolipoprotein B100 (ApoB100) fehérje génjének a funkcióvesztő mutációja. Ritka esetekben az LDL receptor intracelluláris lebontásáért felelős proprotein-konvertáz szubtilizin/kexin 9 (PCSK9) funkciónyerő mutációja felel a jellegzetes klinikai kép kialakulásáért. E három gén mutációja autoszomális domináns öröklésmentet mutat. Igen ritka esetekben az FH autoszomális recesszív módon öröklődik, az LDL receptor adaptor protein 1 (LDLRAP1) funkcióvesztő mutációja következtében, mely az LDL receptor citoplazmatikus szakaszához kötődve annak internalizálásában játszik szerepet (5, 6). Az FH hátterében előforduló genetikai eltérések okozta fehérjefunkció zavarokat az **1. ábra** foglalja össze.



1.ábra. A familiáris hiperkoleszterinémia ismert genetikai okai.

ApoB100: apolipoprotein B100; FH: familiáris hiperkoleszterinémia; LDL: alacsony denzitású lipoprotein;

LDLR: LDL receptor; LDLRAP1: LDL receptor adaptor protein 1; PCSK9: proprotein-konvertáz szubtilizin/kexin 9

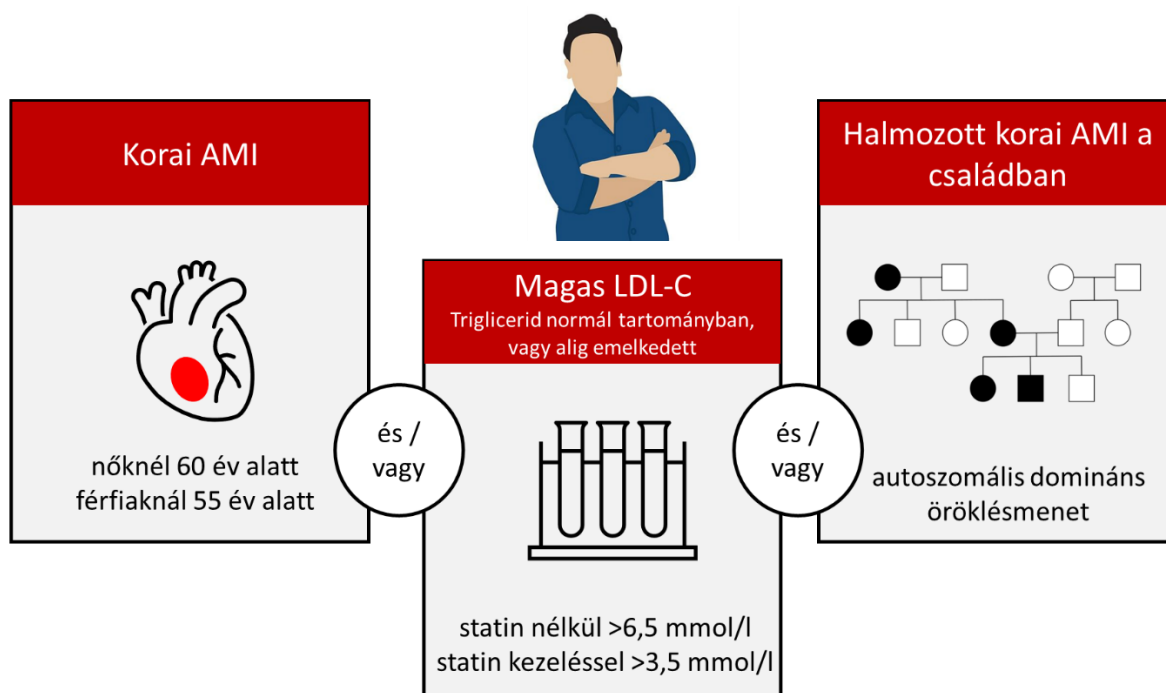
Heterozigóta formában az FH kifejezetten gyakori, egyes európai országokban a prevalencia eléri az 1:200-250 főt (4). Magyarországon egy adatbányászati módszerrel elvégzett vizsgálat alapján a kórkép becsült gyakorisága az észak-alföldi régióban 1:340 (7). A kórkép homozigóta formája ettől jóval ritkább, a korábban 1:1 milliós prevalenciát ma körülbelül 1:170 000-300 000 főre becsülik (8).

Míg a heterozigóta formában a jelölt gének közül az egyikben mutatható ki patogén mutáció, addig a valódi homozigóta formában a mutáció azonos formában, mindkét DNS szálon jelen van. Emellett beszélhetünk kettős heterozigóta formáról, mely esetben két gén különböző patogén mutációi fordulnak elő ugyanazon betegnél, illetve összetett heterozigóta formáról, amikor ugyanazon gén két különböző patogén mutációja van jelen ugyanazon beteg esetén. A kettős vagy összetett heterozigóta esetek klinikailag a homozigóta formának felelnek meg (9). Magyarországon a mutációk jellege megfelel más európai országok regiszter adatainak, az esetek legnagyobb részében az LDL receptor génjében bekövetkező, aminosav cserével járó misszensz mutációk felelősek a kóros LDL receptor működés okozta lipidanyagcsere zavar kialakulásáért (10).

Érdemes megjegyezni, hogy a korszerű molekuláris biológiai módszerek alkalmazása mellett sem mutatható ki minden esetben genetikai eltérés az FH jellegzetes klinikai megjelenésével és laboratóriumi eltéréseivel rendelkező betegek vizsgálata során (11).

2.1.3. A familiáris hiperkoleszterinémia klinikai megjelenése és diagnosztikája

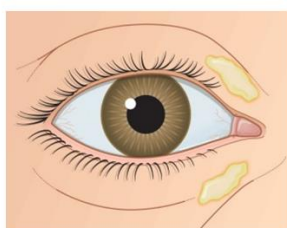
A klinikai tünetek megjelenéséért a már születéstől kezdődően jellemző jelentősen emelkedett összkoleszterin és LDL-C szint felelős, mely fokozza a korai érlemezés kialakulását, ami generalizált érbetegséget okoz. Ezen belül különösen az iszkémiás szívbetegség (ISZB) és az akut miokardiális infarktus (AMI) korai megjelenésével érdemes számolni. A súlyos, homozigóta formában ez akár gyermekkorban kialakulhat, azonban a heterozigóta formában is jelentkezik kezeletlen esetekben akár 45-50 éves korban, de jellemzően nőknél 60, férfiak esetén 55 éves kor alatt. A szérum LDL-C szint kezeletlen esetekben többnyire 6,5 mmol/l feletti, de statin kezelés mellett is meghaladja a 3,5 mmol/l-t. Homozigóta, kettős vagy összetett heterozigóta esetekben azonban 13 mmol/l feletti LDL-C szintek is mérhetőek. A betegség örökletes jellege, autoszomális domináns öröklésmenete miatt a családi anamnézis felvételekor gyakori a korai vaszkuláris megbetegedések, különösen a korai miokardiális infarktus halmozott, gyakran minden generációt érintő előfordulása a női és férfi családtagok érintettségével (2. *ábra*) (12). Ezen tünetek mindenképpen fel kell, hogy vessék az FH diagnózisának gyanúját.



2. *ábra*. A familiáris hiperkoleszterinémia legfontosabb klinikai jellemzői

AMI: akut miokardiális infarktus, LDL-C: alacsony sűrűségű lipoprotein-koleszterin

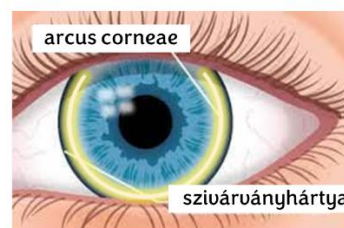
A korai és súlyos, gyorsan progrediáló érlemezés okozta tünetek: az iszkémiás szívbetegség, miokardiális infarktus, iszkémiás stroke és perifériás artériás érbetegség (PAD) mellett az FH-ban gyakrabban fordul elő az aorta billentyű meszesedésével járó aorta stenosis (13). Emellett a betegségnek, különösen a homozigóta formában lehetnek külső manifesztációi is, melyek közül az ínak felett megjelenő szubkután koleszterin lerakódás okozta tendon xanthoma (14) és a szivárványhártyán megjelenő sárgásfehér ív vagy gyűrű formájában megjelenő arcus corneae (15) jellegzetes a kórképre, míg a felső vagy alsó szemhéjon kialakuló szubkután lerakódás okozta xanthelasma palpebrae az FH-tól függetlenül is kialakulhat (16) (**3.ábra**).



xanthelasma



tendon xanthoma



arcus corneae

3. ábra. A familiáris hiperkoleszterinémia külső megjelenési formái

Az FH diagnózisát a genetikai vizsgálat ugyan nagymértékben elősegítheti, de a mindennapi gyakorlatban a diagnózis felállítása nem igényli e költséges és nehezen hozzáférhető, speciális laboratóriumi vizsgálatok elvégzését. Helyette diagnosztikai kritériumrendszerek alkalmazását javasolják, melyek közül Európa legtöbb országában, így hazánkban is a Dutch Lipid Network Kritériumrendszer (DLNC) alkalmazása vált általánossá (**1.táblázat**) (17, 18).

1.táblázat. A Dutch Lipid Network Kritérium rendszer

Dutch Lipid Network Kritérium rendszer	Pont
Családi anamnézis:	
elsőfokú rokonnál fiatal korban CAD vagy PAD	1
elsőfokú rokonokban ín xanthomák, vagy arcus corneae jelenléte	2
Anamnézis:	
nőknél 60 év alatt, férfiaknál 55 év alatt CAD	2
nőknél 60 év alatt, férfiaknál 55 év alatt stroke, vagy PAD	1
Fizikális vizsgálat:	
ín xanthomák jelenléte bármely életkorban	6
arcus corneae jelenléte 45 év alatt	4
Laborvizsgálatok:	
LDL > 8,5 mmol/l	8
LDL 6,5-8,4 mmol/l	5
LDL 5,0-6,4 mmol/l	3
LDL 4,0-4,9 mmol/l	1
+ HDL-C és triglicerid szint normális	
DNS analízis: Kimutatható mutáció az LDL receptor génjében	8

Biztos a diagnózis, amennyiben az elért pontszám magasabb, mint 8. Valószínű, ha 6-8 pontot ér el, és lehetséges, ha 3-5 pontot.

CAD: koronária betegség; LDL: alacsony sűrűségű lipoprotein; PAD: perifériás artériás betegség

Ugyanakkor az Amerikai Egyesült Államokban a Make Early Diagnosis to Prevent Early Death (MEDPED) (19), míg az Egyesült Királyságban a Simon-Broome Kritériumrendszer (20) alkalmazása az elfogadott.

2.1.4. A familiáris hiperkoleszterinémia kezelése

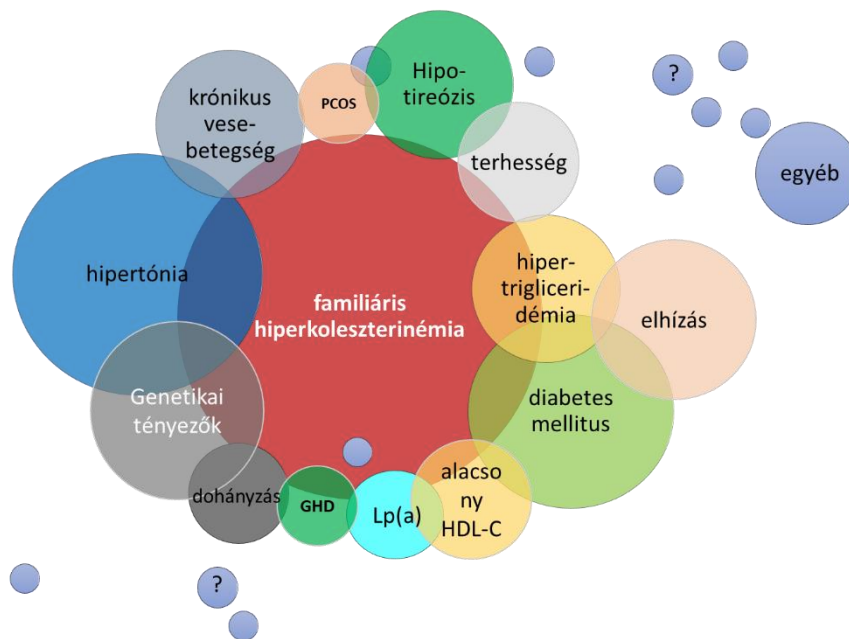
Az FH kezelését illetően különösen fontos annak minél korábbi elindítása, hiszen a betegség örökletes jellege miatt a súlyos hiperkoleszterinémia már gyermekkorban kialakul, így az érlemezésedés folyamata is korábban kezdődik és súlyosabb lefolyású, mint az elsősorban felnőttkorban kialakuló kórformák esetén. Az életmód kezelés a hiperlipidémiák minden típusában ajánlott, azonban az FH esetén a hatékonyság a magas kiindulási összkoleszterin és LDL-C szintek miatt többnyire nem megfelelő. A kezelés alapját a 3-hidroxi-3-metil-glutaril-koenzim-A (HMG-KoA) gátló statinok jelentik, melyet akár 6-8 éves kortól alkalmazhatunk

FH-ban (21). A statinok igazoltan csökkentik a kardiovaszkuláris megbetegedések kialakulásának kockázatát és a halálozást FH betegek esetében (22). Nem megfelelő hatékonyság esetén a statin ezetimibbel történő kombinációja javasolt (23). A hazánkban jelenleg nem elérhető bempedonsav statinnal vagy ezetimibbel kombinálva szintén ajánlott az FH kezelésére (24). A kezelés következő lépését a PCSK9 gátló monoklonális antitestek, azaz az evolocumab (25) vagy alirocumab (26), illetve a kis interferáló RNS (inclisiran) jelenti (27). Homozigóta FH esetén az ApoB100 szintézis gátló antiszensz oligonukleotid mipomersen (28) és a mikroszomális transzfer protein gátló lomitapid (29) adása kísérhető meg. Az angiopoietin-like 3 (ANGPTL3) gátló monoklonális antitest evinacumab (30), valamint az ANGPTL3 képződését gátló antiszensz oligonukleotid vupanorsen (31) és a kis interferáló RNS alkalmazása szintén a súlyos, HoFH betegek esetén merülhet fel. Mind a súlyos HeFH, mind a HoFH esetén a gyógyszeres kezelés szelektív LDL aferezis kezeléssel egészíthető ki (32). A génterápia kifejlesztése a jövő feladata, mivel a kezelés extrém magas költsége, az immunogenitás mérséklése és a precizitás fokozása további fejlesztéseket igényel (33).

2.1.5. A familiáris hiperkoleszterinémia heterogén jellege

A FH betegek esetén tapasztalt korai és gyors progressziójú érelmeszesedés legfontosabb kockázati tényezőjének a szérum LDL-C szintet tekintjük. Kezeletlen FH esetén az ISZB és egyéb ateroszklerotikus érbetegségek kialakulásának kockázata 10-20-szor nagyobb, mint az átlag populációban (34). Ennek ellenére nem minden FH betegnél alakul ki vaszkuláris szövődmény, és a hagyományos kardiovaszkuláris kockázatbecslésre alkalmazott módszerek, például a Framingham kockázatbecslő skála ebben a betegcsoportban nem alkalmas a kockázat felmérésére. Valójában a vaszkuláris szövődmények kialakulása és jellege igen nagy változatosságot mutat az FH betegek esetén, még azonos genetikai eltéréssel rendelkező betegeknél is (35). Így egyre nyilvánvalóbbá vált, hogy a klinikai kép és a kardiovaszkuláris szövődmények kialakulásához számos egyéb faktor, ezen belül genetikai és nem genetikai tényezők is hozzájárulnak (36). Az LDLR, ApoB100 és PCSK9 génjének patogén mutációi mellett a lipidanyagcsere működését befolyásoló egyéb genetikai variánsok hatása is befolyásolhatja a megjelenő diszlipidémia jellegét (37). Egyes, a lipidanyagcsereben kulcsszerepet játszó gének epigenetikai módosulásai szintén jelentős hatást fejthetnek ki (38). Egyéb gyakori betegségek, mint az elhízás, a hipertónia és a 2-es típusú diabetes mellitus gyakran megjelennek az FH betegek esetén is, melyek szintén hatással vannak a szív- és érrendszeri betegségek kialakulására. Az endokrinológiai kórképek ugyancsak módosíthatják a lipidanyagcsere működését, ezzel a szövődmények kialakulásának esélyét FH betegeknél (39).

Az LDL-C szint mellett természetesen lényegesek az egyéb lipidparaméterek, többek között a triglicerid és a HDL-C szintjében bekövetkező változások. Az utóbbi években kiemelt figyelem övezi a lipoprotein (a) [Lp(a)] részecskét, melynek emelkedett szintje a kardiovaszkuláris megbetegedések ismert független kockázati tényezője. Érdeemes hangsúlyozni, hogy számos korábbi vizsgálat eredménye igazolta az emelkedett Lp(a) szint gyakoribb előfordulását FH betegekben a nem FH populációhoz viszonyítva (40-42) (**4. ábra**). A már jól ismert, klasszikus kardiovaszkuláris kockázati tényezőkön kívül az utóbbi évtizedekben egyre több olyan tényezőt azonosítottak FH és nem FH betegeknél, melyek az érlemezés folyamatának valamely szakaszában szabályozó vagy befolyásoló szereppel rendelkeznek, így meghatározásuk hozzájárulhat az ateroszklerózis folyamatának mélyebb megértéséhez és az egyéni kockázat felméréséhez. Ilyen befolyásoló tényezők lehetnek például az LDL és HDL szubfrakciók, egyes gyulladáscsökkentő citokinek (43) vagy a szérumban progranulin szintje (44).



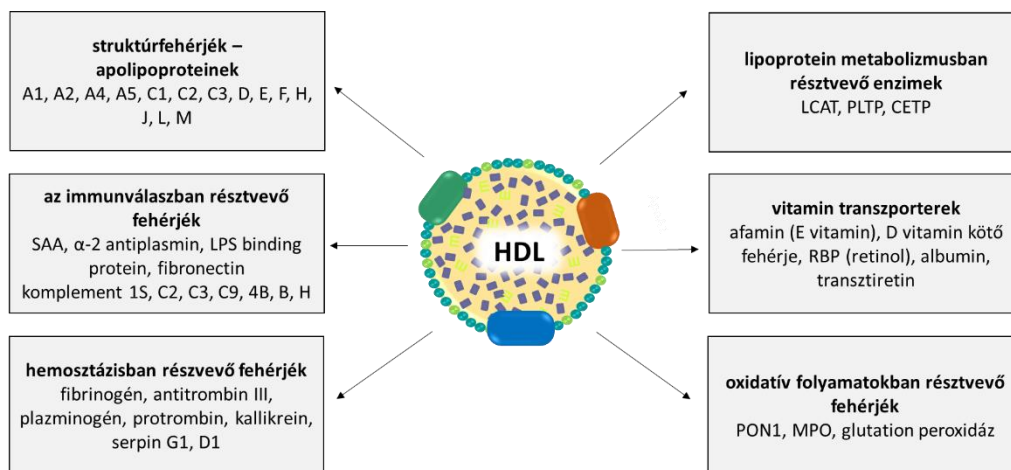
4. ábra. A familiális hiperkoleszterinémia klinikai megjelenését és az érrendszeri szövődmények kialakulásának kockázatát befolyásoló tényezők és társbetegségek (39)
 GHD: növekedési hormonhiány, HDL-C: nagy sűrűségű lipoprotein koleszterin, Lp(a): lipoprotein (a), PCOS: policisztás ovárium szindróma

A hagyományos és nem hagyományos kardiovaszkuláris kockázati tényezők felmérése segíthet a pontosabb kockázatbecslésben, ami elősegíti az egyénre szabott kezelési stratégia kialakítását és populációs szinten azon betegek azonosítását, akik kiemelten nagy kockázatúak, így az új, igen hatékony, ugyanakkor költséges lipidcsökkentő kezelések alkalmazásával a legtöbbet nyernek.

2.2. HDL összetételének és funkciójának jelentősége

A HDL-t elsőként 1929-ben Michel Macheboeuf izolálta a párizsi Pasteur intézetben. A HDL egy nagy sűrűségű, kisméretű (8-10 nm), fehérjében igen gazdag lipoprotein részecske, melynek átlagos sűrűsége 1,063-1,21 g/mL. Hasonlóan más lipoprotein részecskékhez a külső hidrofíl burkot főként foszfatidilkolin, koleszterin és apolipoproteinek alkotják, míg a hidrofób mag főként trigliceridet és koleszterin-észtert tartalmaz (45). Emellett a HDL részecskék igen heterogének, számos egyéb mikro- és makromolekulát tartalmaznak, fehérjetartalmuk és lipidtartalmuk is igen változatos. A lipidtartalmukat főként foszfolipid, koleszterin-észter, szabad koleszterin és triglicerid adja, de számos egyéb foszfolipid, például foszfatidiletanolamin, foszfatidil-szerin és szfingomielin is jelen lehet, melyeknek funkcionálisan is szerepük lehet (46, 47).

A HDL fehérjetartalma kifejezetten magas a többi lipoprotein részecskéhez viszonyítva, mindemellett nagyon változatos is. Eddig több mint 200 HDL-asszociált fehérjét azonosítottak. Az apolipoproteinek a HDL ún. struktúrfehérjéi, amelyek a HDL szerkezetének stabilitása és a lipid transzport szempontjából is kulcsfontosságúnak tekinthetők. Legnagyobb arányban az apolipoprotein A1 (ApoA1) és az apolipoprotein A2 mutatható ki, de számos egyéb apolipoprotein is részt vesz a különböző HDL részecskék szerkezetének és működésének kialakításában (48). A legfontosabb HDL-hez kötődő fehérjéket funkciójuk szerint az **5. ábra** tekinti át.



5.ábra. A HDL részecske legfontosabb fehérjéi funkciójuk alapján

CETP: koleszterin-észter transzfer protein; LCAT: lecitin koleszterin aciltranszferáz; LPS: lipopoliszacharid, MPO: mieloperoxidáz; PLTP: foszfolipid transzfer protein; PON1: humán paraoxonáz-1; RBP: retinol kötő fehérje; SAA: szérum amiloid A

A HDL részecske érlelmeszedést gátló (anti-aterogén) hatásáért számos, egymással részben összefüggő tulajdonsága felelős. Ide tartozik a reverz koleszterin transzport, mely során a HDL koleszterint juttat vissza a perifériás sejtekből, például az érfali makrofágokból a májba, ahol az az epével részben kiürül, részben koleszterintartalma ismét felhasználásra kerül. A HDL antioxidáns hatásáért elsősorban maga az ApoA1, másrészt egyéb antioxidáns enzimek, köztük a humán paraoxonáz-1 (PON1) és a PAFAH felelősek, melyek gátolják a lipid peroxidációt a szabad gyökök mennyiségének csökkentésén keresztül. Érdeemes emellett megemlíteni a HDL anti-trombotikus, anti-inflammatorikus, anti-apoptotikus, és endotel funkciót javító hatását is (49, 50).

A HDL részecskék összetételét, illetve működését számos endogén és exogén tényező befolyásolja, a részecskével funkcionális egységet képező enzimek (PON1, MPO) aktivitása, továbbá számos betegség és gyógyszeres kezelés befolyásolja funkcióját. Az endogén tényezők közül elsősorban a genetikai tényezők szerepe kiemelendő, közel 40 gént azonosítottak, amelyek a HDL szintjét és működését befolyásolják. A HDL de novo képződéséért felelős ApoA1, ABCA1, LCAT gének, valamint a CETP, az SR-BI-ért felelős SCARBI, a LPL, a HL-ért felelős LIPC és az EL-ért felelős LIPG gének módosulásai befolyásolják a HDL funkcióját (51). Számos betegségben igazolódott a HDL diszfunkcionális működése, melyekben inkább pro-aterogén, pro-oxidáns, illetve pro-inflammatorikus hatással bír, így a koronária betegségben, 2-es típusú cukorbetegségben, metabolikus szindrómában, Crohn betegségben, antifoszfolipid-szindrómában, pszoriázisban, krónikus vesebetegségben, szisztémás lupusz eritematózusban, valamint reumatoid artritiszben. A HDL diszfunkció oka az ateroprotektív molekulák (PON1, ApoA1) csökkent szintje és a pro-aterogén molekulák (ApoCIII, SAA, hemoglobin-hemopexin komplex, cöruoplazmin, szimmetrikus dimetil-arginin) magasabb szintje (52).

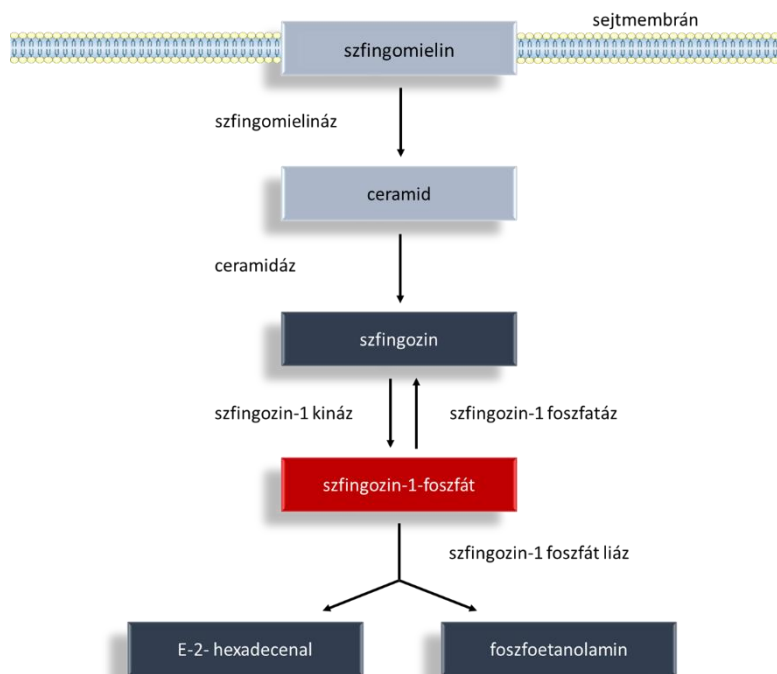
2.2.1. Az apolipoprotein M szerepe

Az apolipoprotein M (ApoM) egy 26 kDa molekulatömegű, 188 aminosavból álló fehérje, mely a lipokalin szupercsaládhoz tartozik. 1999-ben került először leírásra (53). Felnőttkorban a plazmakoncentrációja 0,63-1,13 mmol/l közé tehető (54). Génje a 6. kromoszóma rövid karján helyezkedik el a 21.3 lókuszon, 6 exont tartalmaz és 2,3 kb méretű, meglehetősen konzervatív szerkezetű (55). Felnőttkorban főként a májban és a vesében expresszálódik, de a humán embriogenezis során a májon és a vesén kívül a vékonybélben, a gyomorban és a vázizmokban is kifejeződik (56). A májsejtek által termelt ApoM elsősorban a plazmába szekretálódik, ahol

lipoproteinekhez, ezen belül főként a HDL részecskékhez kötődik, de a többi lipoprotein is megtalálható, így az LDL és a kilomikron részecskéken is jelen van (57). Ezzel szemben a renális eredetű ApoM elsősorban a proximális tubulusok epithel sejtjeiben a multiligand receptor megalinhoz kötődik, mely szükséges a vizelettel szekretált ApoM reabszorpciójához (58). A folyamat biológiai jelentősége jelenleg nem tisztázott, feltételezik, hogy az ApoM lipokalin struktúrája képes kis lipofil ligandok megkötésére a szűrletben, megakadályozva azok vizelettel történő kiürülését (58).

2.3. A szfingozin-1-foszfát szerepe

A szfingozin-1-foszfát (S1P) egy bioaktív szfingozin lebontási termék. Számos, a sejt működése szempontjából alapvető szerepet tölt be, például szabályozza a sejtproliferációt, a sejtek túlélését és migrációját, ezáltal hatást gyakorol a gyulladáson és a vaszkuláris rendszer működésére. A S1P a sejtmembrán szfingomielinéből, majd ceramidból képződő szfingozinból jön létre a szfingozin-kináz enzim által katalizált folyamat során. A S1P lebontását a szfingozin-1-foszfát liáz enzim végzi, a folyamat során E-2-hexadecenal és foszfoetanolamin keletkezik (6. ábra) (59).

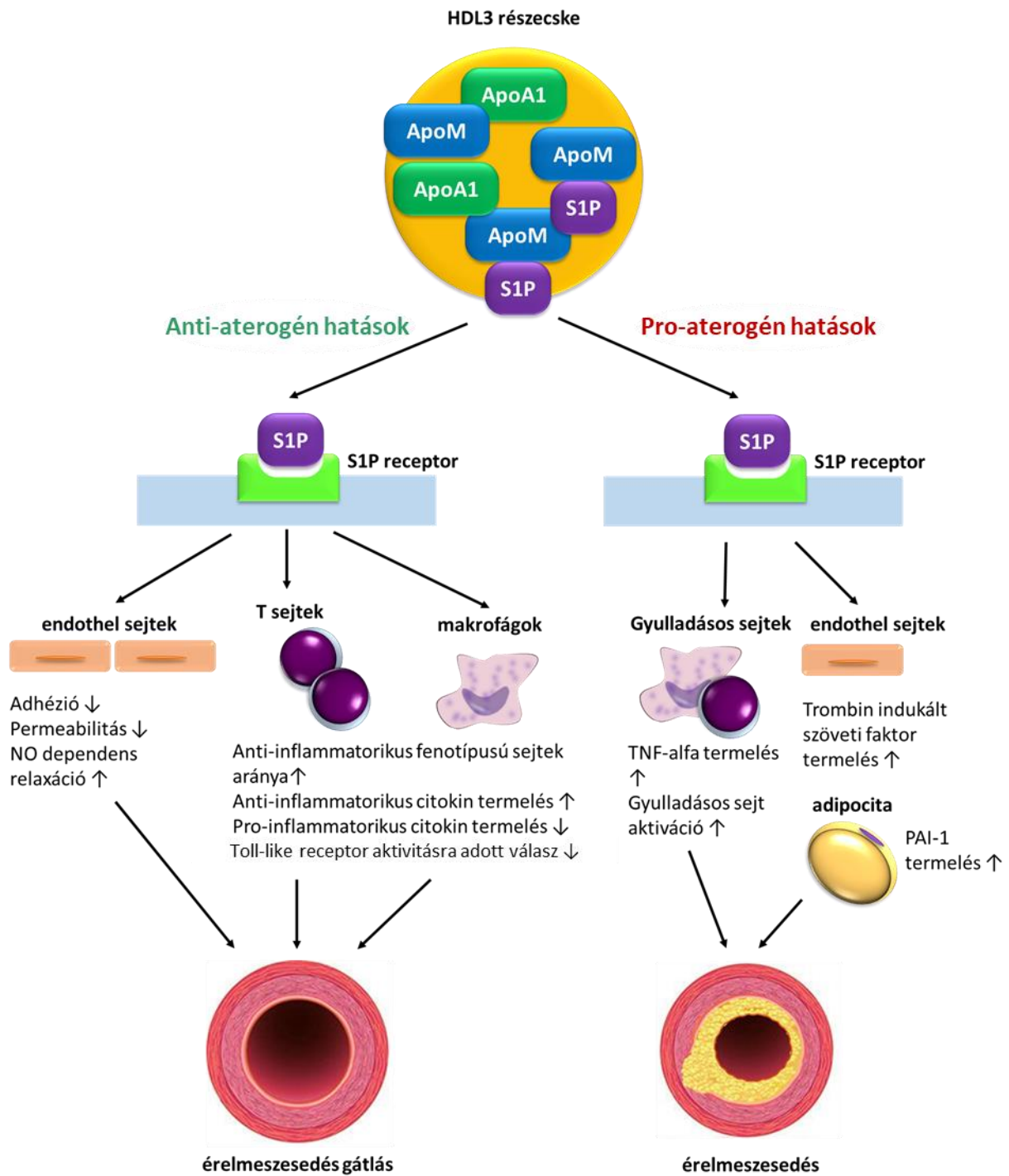


6. ábra. A szfingozin-1 foszfát képződése a sejtmembrán szfingomielinéből (60)

Az S1P plazma koncentrációja körülbelül 200-1000 nmol/l. Amfipatikus tulajdonsága miatt az S1P szállításához hordozó fehérjék szükségesek a keringésben. Legnagyobb arányban, mintegy 65-80%-ban a HDL partikulumok ApoM fehérjéihez kötődik (59, 61), míg a kisebb hányada albuminhoz és egyéb lipoprotein részecskék fehérjéihez kötötten kering. A HDL részecskék közül kizárólag az ApoM tartalmúak képesek az S1P-t megkötni (55). Azonban az ApoM S1P kötőhelyéért az S1P más molekulákkal, például oxidált foszfolipidekkel és retinollal versenyez (62). Érdemes megemlíteni, hogy a hemopoiotikus sejtek, például a vörösvértestek és a vérlemezkék is jelentős mennyiségű S1P-t tárolnak. Ugyanakkor ezek a sejtek nem rendelkeznek szfingozin-1-foszfát liáz enzimmel, így valószínűleg e sejtek direkt módon veszik át a keringésben a HDL vagy egyéb lipoproteinek S1P tartalmát annak membránjával érintkezve (62). Emellett az S1P egyéb lipoprotein részecskékről is átkerülhet az HDL részecskére a foszfolipid transzfer fehérje segítségével (63).

A S1P biológiai hatékonysága ugyanakkor különbözik attól függően, hogy HDL-hez vagy egyéb fehérjékhez, például albuminhoz kötötten van jelen, ugyanis a HDL-hez kötött S1P hatékonyabb az albuminhoz kötött formájához képest (64).

Másrészt a HDL anti-aterogén funkciójának hatékonysága jelentős mértékben függ az S1P tartalmától. A legfontosabb anti-aterogén funkciók az endotel sejtek nitrogén-monoxid (NO) termelésének elősegítése az endoteliális nitrogén-monoxid szintetáz (eNOS) aktivitás fokozásával, ezáltal az NO függő vazodilatáció elősegítése (65), a tumor nekrosis faktor-alfa (TNF α) indukált adhézis molekulák termelésének gátlása (66), az endotel sejt barrier erősítése, az endotel sejtek proliferációjának és túlélésének, valamint az angiogenesis folyamatának előmozdítása (66). Továbbá a szívizomsejtek hipoxiás és reperfüziós károsodásának kivédése (67), az érfali simaizomsejtek adhézis molekuláinak gátolt expressziója és fokozott prosztaciklin termelése (68). Az S1P kulcsszerepét támasztják alá azok a megfigyelések, melyek alapján az S1P delipidálással történő eltávolítása, az S1P elleni neutralizáló antitestek adása, vagy a mesterséges S1P mentes HDL létrehozása a HDL működését jelentős mértékben károsítja (69-71) (7. *ábra*).



7. ábra. Az Apolipoprotein M-szfingozin-1-foszfát tengely érelmeszesedés elősegítő és gátló hatásai (60)

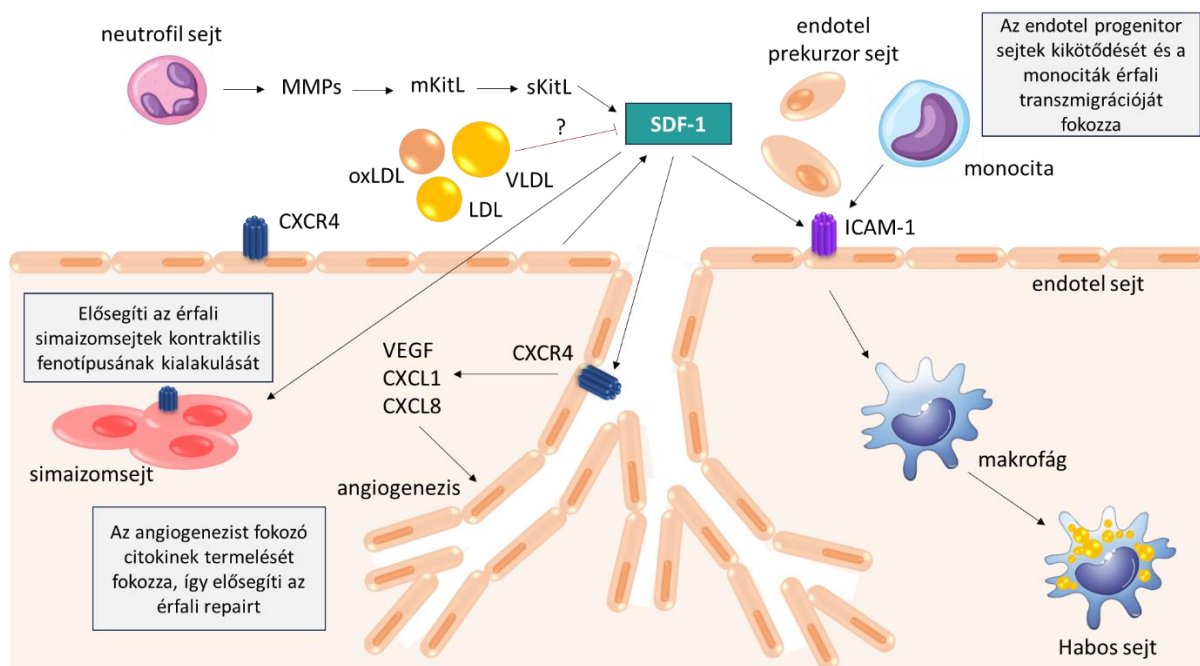
ApoA1: apolipoprotein A1, ApoM: apolipoprotein M, HDL3: nagy sűrűségű lipoprotein 3, NO: nitrogén-monoxid, PAI-1: plazminogén aktivátor inhibitor-1, S1P: szfingozin-1-foszfát, TNF α : tumor nekrozis faktor alfa

2.4. A stromaeredetű faktor-1 jelentősége

A stromaeredetű faktor-1 (stromal derived factor-1; SDF-1), vagy másnéven C-X-C motif ligand 12 (CXCL12) egy konzervatív kemokin, melyet számos sejtípus, köztük a csontvelő sejtjei, az endotel és epitel sejtek és a különböző daganatos sejtek is képesek termelni. Legfontosabb receptora a C-X-C Motif Chemokine Receptor 4 (CXCR4), amely a G-proteinhez kötött receptor család tagja, szerkezetileg hét transzmembrán domén alkotja. A CXCR4 számos sejt felszínén mutatható ki, expresszálják a simaizomsejtek, az endotel sejtek és a hemopoietikus sejtek, emellett az asztrociták, mikroglia és neuron sejtek is.

Az SDF-1 szerepét fiziológias és patológias körülmények között igen intenzíven vizsgálták az elmúlt néhány évben. Az eddigi kutatások eredményei alapján az SDF-1 direkt módon részt vesz az angiogenezis folyamatában az endotel progenitor sejtek megkötésével az endotel sejtek felszíni CXCR4 receptorain keresztül. Emellett az SDF-1 indirekt módon is képes elősegíteni az angiogenezis folyamatát, mégpedig az endotel sejtek proangiogenetikus citokin termelésén keresztül, melyek közül a CXCL1, a CXCL8 és a VEGF szerepe emelendő ki (72, 73) (**8. ábra**). Emellett az SDF-1-et kimutatták az érlemezésedékes plakkokban és szerepe az ateroszklerózis folyamatában több ponton is felmerült. Az intercelluláris adhéziós molekula-1 (ICAM-1) expressziójának fokozásán keresztül elősegíti az endotel progenitor sejtek érfalhoz történő kikötődését, emellett a monociták transzendoteliális migrációját.

Az SDF-1 komplex érlemezésedésre és az érfali repair folyamatokra kifejtett hatását a **8. ábra** mutatja be.



8. ábra. A stromaeredetű faktor-1 komplex hatása az érlemezésedés és az érfali repair folyamatára (Petit és mtsai módosított ábrája)(74)

CXC: C-X-C motif; CXCL: C-X-C motif ligand; CXCR: C-X-C motif ligand receptor, ICAM: intercelluláris adhéziós molekula; LDL: alacsony sűrűségű lipoprotein; mKitL: membránhoz kötött Kit ligand; MMPs: mátrix metalloproteázok; oxLDL: oxidált alacsony sűrűségű lipoprotein; sKitL: szolubilis Kit ligand; VLDL: nagyon alacsony sűrűségű lipoprotein

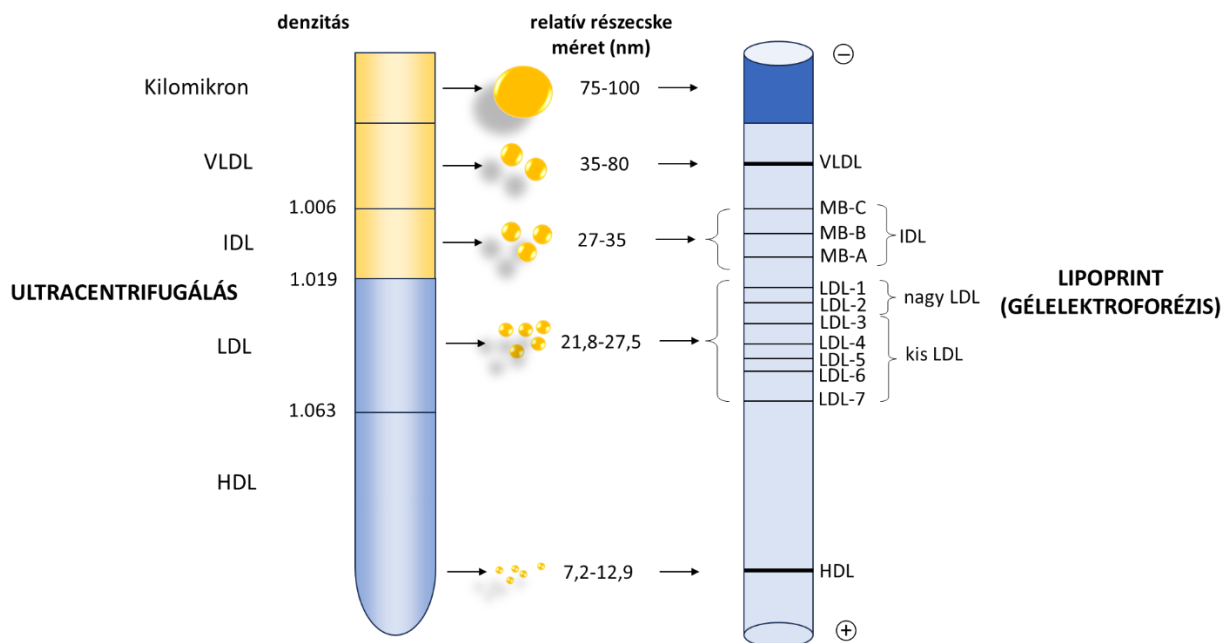
2.5. Az LDL és HDL szubfrakciók meghatározása

A méretben, töltésben, összetételben és sűrűségben igen eltérő LDL és HDL részecskéket alcsoportokra, ún. szubfrakciókra oszthatjuk, melyek meghatározása nem része a rutin laboratóriumi vizsgálatoknak és a mindennapi klinikai gyakorlatnak, ugyanakkor ismeretük tudományos szempontból elősegítheti az LDL és HDL funkció jobb megértését.

Számos laboratóriumi módszer létezik a lipoprotein szubfrakciók meghatározására, amelynek klasszikus, ún. gold standard módszere az analitikai ultracentrifugálás. Az ultracentrifugálás során az LDL a 1,019-1,063 g/ml-es, míg a HDL az 1,063-1,021 g/ml denzitású lipoprotein frakciót jelenti. Alkalmazzák emellett a sűrűséggradiens ultracentrifugálást, a gradiens gélelektroforézist, a 2D gélelektroforézist és a mágneses magrezonancia spektroszkópiát, valamint a nagy felbontású ion-mobilitás technikát (75). A szubfrakciók meghatározásában igen nagy előrelépés volt a kereskedelmi forgalomban megvásárolható, standardizált, könnyen értékelhető Lipoprint módszer (Quantimetrix. Corp. Redondo Beach, CA, USA), mely egy

csöves nem grádiens gélelektroforézis. Ezzel a módszerrel méretük alapján az LDL szubfrakciós kittel maximálisan hét LDL szubfrakció, míg a HDL szubfrakciós kittel tíz HDL szubfrakció különíthető el, amelyeket az LDL esetén két alcsoportba: nagy (LDL1-2) és kis (LDL3-7) LDL szubfrakcióra, a HDL esetén három alcsoportba: nagy (HDL1-3), közepes (HDL4-7) és kis (HDL8-10) HDL szubfrakcióra oszthatunk.

Az idő- és eszközigenyes, emellett költséges ultracentrifugálással, illetve a kevésbé eszközigenyes, árban és időigényét tekintve is kedvezőbb, így egyre szélesebb körben használt Lipoprinntel meghatározott LDL szubfrakciókat a **9. ábra** mutatja be.



9. ábra. A lipoprotein frakciók és szubfrakciók meghatározása ultracentrifuga és Lipoprint gélelektroforézis módszerrel (<http://www.labanalisisbruno.it/lipoprint.html>)

HDL: high-density lipoprotein; IDL: intermediate density lipoprotein; LDL: low-density lipoprotein; MB: midband; VLDL: very low-density lipoprotein

Hasonló módon történik a HDL szubfrakciók szétválasztása is. Itt azonban a VLDL, IDL és LDL részecskék nem válnak el, hanem a felvitel helyén maradnak, míg a cső alján az albumin leggyorsabban mozgó sávja válik láthatóvá. E két sáv között választódik el a 10 különböző HDL szubfrakció.

Érdeemes megjegyezni, hogy a szubfrakciók meghatározása során alkalmazott különböző módszerek eltérő tulajdonságú szubfrakciók elkülönítését teszik lehetővé, amely megnehezíti az egyes tanulmányok eredményeinek összehasonlítását és a lipid szubfrakciók jelenőségének megértését.

3. Célkitűzések

Munkánk során célul tűztük ki kezeletlen HeFH betegekben és nemben, BMI-ben illesztett kontroll csoportban

- a szérumban S1P és ApoM szint meghatározását,
- az S1P, illetve az S1P/ApoM arány lipid paraméterekkel való összefüggésének,
- ezen belül a HDL és LDL szubfrakciók arányával való korrelációjának,
- valamint az S1P/ApoM arány gyulladásos, oxidatív és endotel funkciók paraméterekkel való összefüggésének vizsgálatát.

Emellett célul tűztük ki ugyanezen beteg és kontroll csoportban

- a szérumban SDF-1 szint meghatározását,
- a szérumban SDF-1 szint összefüggésének vizsgálatát a lipid paraméterekkel,
- ezen belül a HDL és LDL szubfrakciók arányával,
- továbbá gyulladásos oxidatív és endotel funkciók paraméterekkel.

4. Betegek és módszerek

4.1 Vizsgálati populáció

Nyolcvanegy heterozigóta FH-s (ötvenöt nő és huszonhat férfi) beteget, valamint harminckét korban és nemben illesztett egészséges kontroll személyt vontunk be vizsgálatunkba. A betegek bevonása a Debreceni Egyetem Belgyógyászati Klinika A épület Lipid Szakrendelésén megjelent betegek közül történt. Minden FH-s beteg heterozigóta volt (HeFH) egy bizonyított LDL-receptor génmutációval, vagy teljesítette a DLCN FH diagnosztikus kritériumait. Az FH-s betegeket Lipid Szakrendelésünkre házi orvos, kardiológus és neurológus irányította az FH diagnózisának felállítása és a megfelelő kezelése bevezetése céljából. A bevonáskor a betegek azonban még nem részesültek lipidcsökkentő gyógyszeres kezelésben. A kórelőzmény adatai rögzítésre kerültek, dokumentáltuk az akut miokardiális infarktust, a stroke, a carotis stenosis és a perifériás artériás betegség előfordulását. A kontroll egyének bevonása Klinikánk általános belgyógyászati ambulanciájáról történt. Az általános ambulanciánkra rutinszerűen beutalt betegek mintáit használtuk kontrollként. Olyan kontroll személyeket választottunk ki, akik nem részesültek gyógyszeres kezelésben, korábban krónikus betegségben nem szenvedtek és nem volt akut betegség miatti kezelésük az elmúlt három hónapban. Ezenkívül a kontroll személyek esetén sem a fizikális vizsgálat, sem az elektrokardiogram, sem a laboratóriumi vizsgálatok, beleértve a lipidparamétereket, nem mutattak eltérést a referenciatartományhoz képest. Kizárási kritérium volt továbbá az 1-es és 2-es típusú cukorbetegség, az alkoholizmus, a májbetegség, az autoimmun és endokrin betegség fennállása. Rosszindulatú daganatos betegségben szenvedő egyének, valamint várandós nők szintén kizárásra kerültek. A résztvevőket részletesen tájékoztattuk a kutatásról, akik részvételi szándékukat írásbeli beleegyezésükkel erősítették meg. A vizsgálati protokollt a helyi és regionális etikai bizottságok hagyták jóvá (DE RKEB/IKEB 4775-2017, időpont: 2020. április 3. és az ETT TUKEB 34952-1/2017/EKU, a beérkezés időpontja: 2017. június 30.), valamint a tanulmányt a Helsinki Nyilatkozatnak megfelelően végeztük el.

4.2 Vérvétel és laboratóriumi paraméterek mérése

A vizsgálatba bevonásra került betegektől és kontroll személyektől 12 óras éhezést követően vénás vérvétel történt. A szérum mintákat 10 perces 3500 g-n történő centrifugálással választottuk el 4 °C-on. A mintákból a lipidanyagcserére jellemző paraméterek meghatározása a Debreceni Egyetem Laboratóriumi Medicina Intézetében standard laboratóriumi módszerekkel történt Cobas c600 típusú analizátorral (Roche, Ltd, Mannheim, Németország).

A szérum összkoleszterin és a triglicerid koncentráció meghatározása enzimatikus, kolorimetriás módszerrel, a HDL-C és az LDL-C esetében homogén enzimatikus módszerrel (Roche HDL-C plus 3rd generation és Roche LDL-C plus 2nd generation) történt. Az apolipoprotein A1 (ApoA1), az apolipoprotein B (ApoB) és a lipoprotein (a) (Lp(a)) meghatározás immunturbidimetriás módszerrel történt (Tina-quant Apolipoprotein A-1 ver.2, Tina-quant Apolipoprotein B ver.2 és Tina-quant Lipoprotein(a) ver2). A vizsgálatok elvégzése a gyártó által megadott útmutató szerint történt. További laboratóriumi mérésekhez a szérum mintákat -70 °C-on tároltuk, és két hónapon belül felhasználásra kerültek.

4.3 A szfingozin-1-foszfát (S1P) szint mérése

Az S1P szint meghatározása enzimhez kapcsolt immunszorbens assay (ELISA) kittel történt (Echelon Biosciences, Salt Lake City, USA), a gyártó által megadott útmutató szerint. Az értékek µg/ml-ben kerültek megadásra.

4.4. Az apolipoprotein M (ApoM) szint mérése

A szérum apoM szintek meghatározása ELISA kit (BioVendor – Laboratori medicina a.s., Brno, Csehország) felhasználásával történt a gyártó által megadott útmutató szerint és az értékek µg/ml-ben kerültek megadásra.

4.5 A stromaeredetű faktor-1 (SDF-1) szint mérése

A szérum SDF-1 szint meghatározása enzimhez kapcsolt immunszorbens assay kittel történt (ELISA, Cat. No. DY350-05, R&D Systems Europe Ltd, Abington, Egyesült Királyság) a gyártó által megadott útmutató szerint. Az értékek pg/ml-ben kerültek megadásra.

4.6 Az oxidált alacsony sűrűségű lipoprotein (oxLDL) szérum szintjének mérése

Az oxLDL szérum koncentráció meghatározása egy kereskedelmi szendvics ELISA kit (Cat. No. 10-1143-01, Mercodia AB, Uppsala, Svédország) felhasználásával történt, amelyben két monoklonális antitest irányul az oxidált apolipoprotein B molekula különálló antigén determinánsai ellen. Az oxLDL mérések szenzitivitása <1 mU/l volt, illetőleg a mérésre szolgáló intra- és inter-assay variabilitás 5,5-7,3% és 4-6,2% volt.

4.7 A szolubilis intercelluláris adhéziós molekula-1 (sICAM-1), a szolubilis vaszkuláris adhéziós molekula-1 (sVCAM-1), mátrix metalloproteináz-9 (MMP-9) és szolubilis CD40 ligand (sCD40L) szérumszint mérése

A szérumszint sICAM-1, sVCAM-1, MMP-9 és sCD40L meghatározása kereskedelmi szendvics ELISA kiték felhasználásával történt (R&D Systems Europe Ltd., Abington, Anglia). Az ELISA vizsgálatokat a gyártó utasításainak megfelelően végeztük. Az intra-assay variáció 3,7-5,2 % (sICAM-1), 2,3-3,6% (sVCAM-1), 3,5-5,5 % (MMP9) és 4,5-5,4% (sCD40L) voltak, illetőleg az inter-assay variáció 4,4-6,7% (sICAM-1), 5,5-7,8% (sVCAM-1), 4,9-8,0 % (MMP9) és 6,0-6,4% (sCD40L) voltak. A koncentráció értékeket ng/ml-ben adtuk meg.

4.8 A szérumszint mieloperoxidáz koncentráció mérése

A szérumszint mieloperoxidáz koncentráció meghatározása egy kereskedelmi forgalomban kapható szendvics ELISA kit (R&D Systems Europe Ltd., Abington, Anglia) felhasználásával történt a gyártó utasításai szerint. A variációk intra- és inter-assay együtthatója 6,5-9,4 % volt.

4.9. A PON1 paraoxonáz és arileszteráz aktivitások meghatározása

A szérumszint PON1 arileszteráz aktivitást fenilacetát szubsztráttal (Sigma Aldrich, Budapest, Magyarország) mértük, illetőleg a fenilacetát hidrolízisét szobahőmérsékleten 270 nm-en követtük. A szérumszint PON1 paraoxonáz és sóstimulálta aktivitás meghatározása mikrotiter tárgylemezen, kinetikus félautomatizált módszerrel történt, szubsztrátként paraoxont (O,O-diethyl-O-p-nitrofenyl-foszfát, Sigma-Aldrich, Budapest, Hungary) használtunk, a paraoxon hidrolízisét szobahőmérsékleten 405 nm-en követtük.

4.10. A szérumszint LDL és HDL szubfrakciók meghatározása poliakrilamid gélelektroforézissel

A szérumszint LDL és HDL lipoprotein szubfrakciók elválasztása elektroforetikus módszerrel történt poliakrilamid gélen Lipoprint módszerrel (Lipoprint System, Quantimetrix Corporation, Redondo Beach, CA, USA). 25 µl szérumszint adtunk a poliakrilamid gélcsővekhez, valamint 200 és 300 µl gél oldatot töltöttünk bele egyenként, amely lipofil festékként szudánfeketét tartalmaz. A csöveket szobahőmérsékleten 30 percig fotopolimerizáltuk, majd 3 mA/cső áramerősség mellett elektroforetizáltuk. Az elektroforézis kádban a gyártó által biztosított humán kontroll szérumszint is futtattunk (Lipasure Serum Lipoprotein Control, Quantimetrix Corp., Redondo Beach, CA, USA). Ezt követően az elektroforézis során keletkező sávokat ArtixScan M1 digitális szkennert (Microtek International Inc., Hsinchu, Taiwan)

felhasználásával szkenneltük, majd Lipoware szoftverrel elemeztük (Quantimetrix Corporation, Redondo Beach, CA, USA).

Az LDL-szubfrakciós analízis során hét LDL szubfrakciót detektáltunk a VLDL és HDL sávja között (Cat. No. 48-7002). A nagy LDL (nagy LDL %) arányát az LDL1 és az LDL2 százalékanak összegeként határoztuk meg, illetőleg a kis LDL (kis LDL %) arányát az LDL3-LDL7 összegeként határoztuk meg. Az LDL szubfrakciók koleszterin koncentrációját úgy határoztuk meg, hogy a szubfrakciók görbe alatti területét megszoroztuk a minta teljes koleszterin koncentrációjával. A számított teljes LDL-C, a Midbands C-A és az LDL-szubfrakciókra (LDL1-LDL7) vonatkozó koleszterin összegéből áll, és nagyban korrelál a közvetlenül mért LDL-C értékével. A HDL szubfrakciós analízis során tíz HDL szubfrakciót detektáltunk (Cat. No. 48-9002). Nagy (HDL1–3), közepes (HDL4–7) és kis (HDL8–10) HDL szubfrakciókat különítettünk el a VLDL/IDL/LDL és albumin sávok között. A HDL szubfrakciók koleszterin tartalmát a Laboratóriumi Medicina Intézet által meghatározott HDL-C alapján, a Lipoware szoftver használatával kalkuláltuk a szubfrakciók görbe alatti terület alkalmazásával.

4.11. Statisztikai módszerek

A statisztikai elemzéseket a Statistica 13.5.0.17 szoftver (TIBCO Software Inc., Tulsa, OK, USA), és a GraphPad Prism 6.01 (GraphPad Prism Software Inc., San Diego, CA, USA) alkalmazásával végeztük. A statisztikai erő kalkulálása az SPH Analytics online kalkulátor (SPH Analytics LTD., Alpharetta, GA, USA) alkalmazásával történt. A statisztikai erő mindkét vizsgálati elrendezésben 0,8 (0,98) felett volt. Két kategorikus változó közötti különbséget chi-négyzet próbával számítottuk ki. Az eloszlás normalitását a Kolmogorov-Smirnov teszttel vizsgáltuk. A csoportok közötti összehasonlítást a normál eloszlású változók esetén Student-féle párosítatlan t-próbával, nem normál eloszlású változók esetén Mann-Whitney U-próbával végeztük. Az adatokat az átlag \pm SD vagy medián (felső-alsó kvartilis) formájában jelenítettük meg. Pearson korrelációt használtuk a kiválasztott változók közötti kapcsolat vizsgálatára. Többszörös regressziós analízist végeztünk annak meghatározására, hogy mely változók a szérum S1P, ill. a SDF-1 szint független prediktorai. A $p \leq 0,05$ értéket tekintettük statisztikai szempontból szignifikánsnak.

5. Eredmények

5.1 A lipid szintek, gyulladáso és oxidatív markerek HeFH betegek és kontrollok esetén

A HeFH csoportban szignifikánsan magasabb szérúm összkoleszterin, LDL-C, triglicerid, apoB100 és Lp(a) szintet találtunk a kontroll csoporthoz viszonyítva, míg a HDL-C és az ApoA1 szint esetén nem volt szignifikáns eltérés. Bár szignifikánsan magasabb volt a PON1 arileszteráz aktivitás a HeFH betegekben a kontrollokhoz viszonyítva, a PON1 paraoxonáz és sóstimulált paraoxonáz aktivitásban nem találtunk szignifikáns eltérést. A szérúm oxLDL, mieloperoxidáz, sICAM-1 és TNF α szérúm szintje szignifikánsan magasabb volt a HeFH csoportban a kontrollokhoz képest, míg a sVCAM-1, sCD40L és hsCRP szérúm szintje nem különbözött szignifikánsan a két csoportban (2. táblázat).

2. táblázat A vizsgálatban résztvevők antropometriai és laboratóriumi paraméterei. Az értékek átlag \pm standard deviáció vagy medián (alsó kvartilis-felső kvartilis) formában vannak megadva

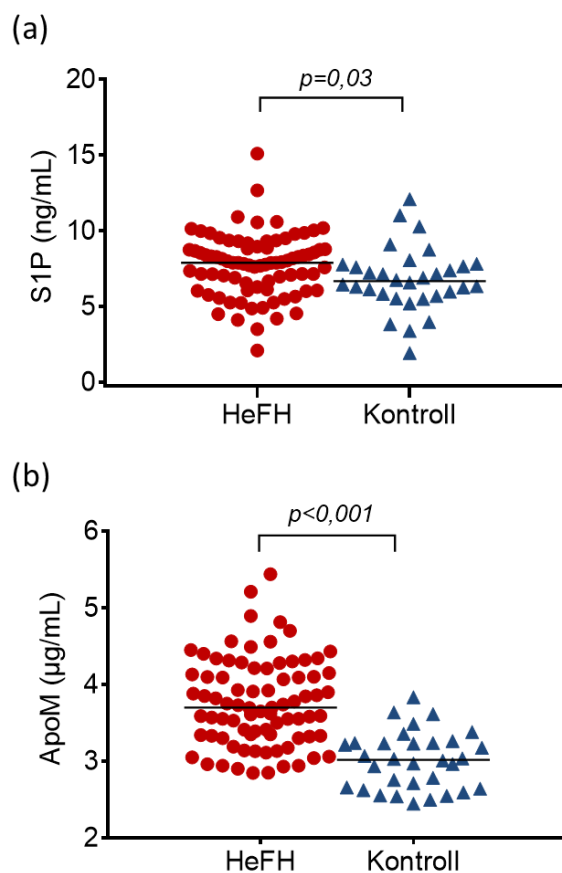
	HeFH betegek	Kontrollok	p érték
Résztvevők száma (n)	81	32	
Nem (férfi/nő)	26/55	5/27	ns.
Életkor (év)	53,22 \pm 14,5	41,8 \pm 6,0	p<0,001
BMI (kg/m ²)	25,85 \pm 3,67	24,48 \pm 2,49	ns.
Éhgyomri glükóz (mmol/l)	5,03 \pm 0,6	4,8 \pm 0,5	p<0,05
Dohányos (n; %)	16 (19,75)	5 (16,13)	ns.
Lipid paraméterek			
Összkoleszterin (mmol/l)	8,87 \pm 1,47	5,07 \pm 0,78	p<0,001
HDL-C (mmol/l)	1,62 \pm 0,48	1,56 \pm 0,46	ns.
LDL-C (mmol/l)	6,48 \pm 1,28	2,93 \pm 0,52	p<0,001
Triglicerid (mmol/l)	1,6 (1,0-2,4)	1,0 (0,75-1,39)	p<0,001
ApoB100 (g/l)	1,78 \pm 0,38	0,94 \pm 0,18	p<0,001
ApoA1 (g/l)	1,71 \pm 0,28	1,68 \pm 0,31	ns.
Lp(a) (mg/l)	179 (75-857)	90 (30-214)	p<0,05
Gyulladáso és oxidatív markerek			
hsCRP (mg/l)	1,84(0,70-2,90)	1,55(0,6-2,95)	ns.
PON1 paraoxonáz aktivitás (U/l)	107,02(43,61-166,5)	83,0(47,9-167,4)	ns.

PON1 sóstimulált paraoxonáz aktivitás (U/l)	183,5(103,2-322,6)	169,4(97,3-297,4)	ns.
PON1 arileszteráz aktivitás (U/l)	143,2±25,12	135,4±36,8	p<0,01
MPO (ng/ml)	297,7(158,15-456,5)	135,7(99,4-195,1)	p<0,001
oxLDL (U/l)	187,98±71,04	41,1±9,57	p<0,001
sICAM-1 (ng/ml)	270,66±69,9	210,8±32,2	p<0,001
sVCAM-1 (ng/ml)	573,9±140,45	467,7±106,3	ns.
sCD40L (ng/ml)	10,02±4,3	8,22±3,44	ns.
TNF α (pg/ml)	0,47±0,17	1,66±0,91	p<0,001
MMP-9 (ng/ml)	469,4±249,4		

Rövidítések: ApoA1: apolipoprotein A1; ApoB100: apolipoprotein B100; HeFH: heterozigóta familiáris hiperkoleszterinémia; HDL-C: nagy sűrűségű lipoprotein koleszterin; hsCRP: nagy szenzitivitású C-reaktív protein; LDL-C: alacsony sűrűségű lipoprotein koleszterin; Lp(a): lipoprotein (a); MMP-9: mátrix metalloproteináz-9; MPO: mieloperoxidáz; oxLDL: oxidált LDL; PON1: humán paraoxonáz-1; sCD40L: szolubilis CD40 ligand; SDF-1: stromaeredetű faktor-1; sICAM-1: szolubilis intercelluláris adhéziós molekula-1; sVCAM-1: szolubilis vaszkuláris adhéziós molekula-1; TNF α : tumor nekrozis faktor alfa

5.2 Szérum S1P és ApoM szintek HeFH betegekben és a kontroll csoport esetén

A szérum ApoM és S1P szintek szignifikánsan magasabbak voltak HeFH betegek esetén a kontroll csoporthoz viszonyítva (**10. ábra**).



10.ábra. S1P (a) és ApoM (b) szérumban koncentrációja HeFH betegekben és kontrollokban

ApoM: apolipoprotein M; HeFH: heterozigóta familiáris hiperkoleszterinémia; S1P: szfingozin-1-foszfát

Nem találtunk szignifikáns különbséget az ApoM és S1P szintek tekintetében HeFH betegekben vaszkuláris szövődmények nélkül (nonVSZ), illetve vaszkuláris szövődmények (VSZ) esetén, beleértve az akut miokardiális infarktust, stroke, artéria carotis szűkület, perifériás artériás betegség előfordulását (ApoM: VSZ $3,79 \pm 0,62$ vs. nonVSZ $3,73 \pm 0,53$ µg/ml, $p=0,7$; S1P: VSZ $7,63 \pm 1,08$ vs. nonVSZ $7,75 \pm 2,06$ ng/ml, $p=0,8$). Nem találtunk szignifikáns különbséget az S1P/ApoM arány tekintetében HeFH betegekben a kontrollokhoz viszonyítva (2120 ± 700 vs. 2290 ± 740 , $p=0,2$).

5.3 Az LDL és HDL szubfrakciók szintje és aránya a HeFH betegekben és a kontrollokban

A VLDL és IDL szubfrakciók aránya és szintje, valamint az IDL szubfrakció szintje szignifikánsan magasabb volt HeFH betegekben a kontrollokhoz viszonyítva. Mind a nagy és kis LDL szubfrakció aránya szignifikánsan magasabb volt a HeFH betegekben, míg az átlagos

LDL méret szignifikánsan alacsonyabb volt a betegekben a kontrollokhoz viszonyítva. A HDL szubfrakciók tekintetében a nagy és közepes HDL szubfrakció aránya és szintje alacsonyabb, míg a kis HDL szubfrakció aránya és szintje magasabb volt HeFH betegekben a kontrollokhoz képest (**3. táblázat**).

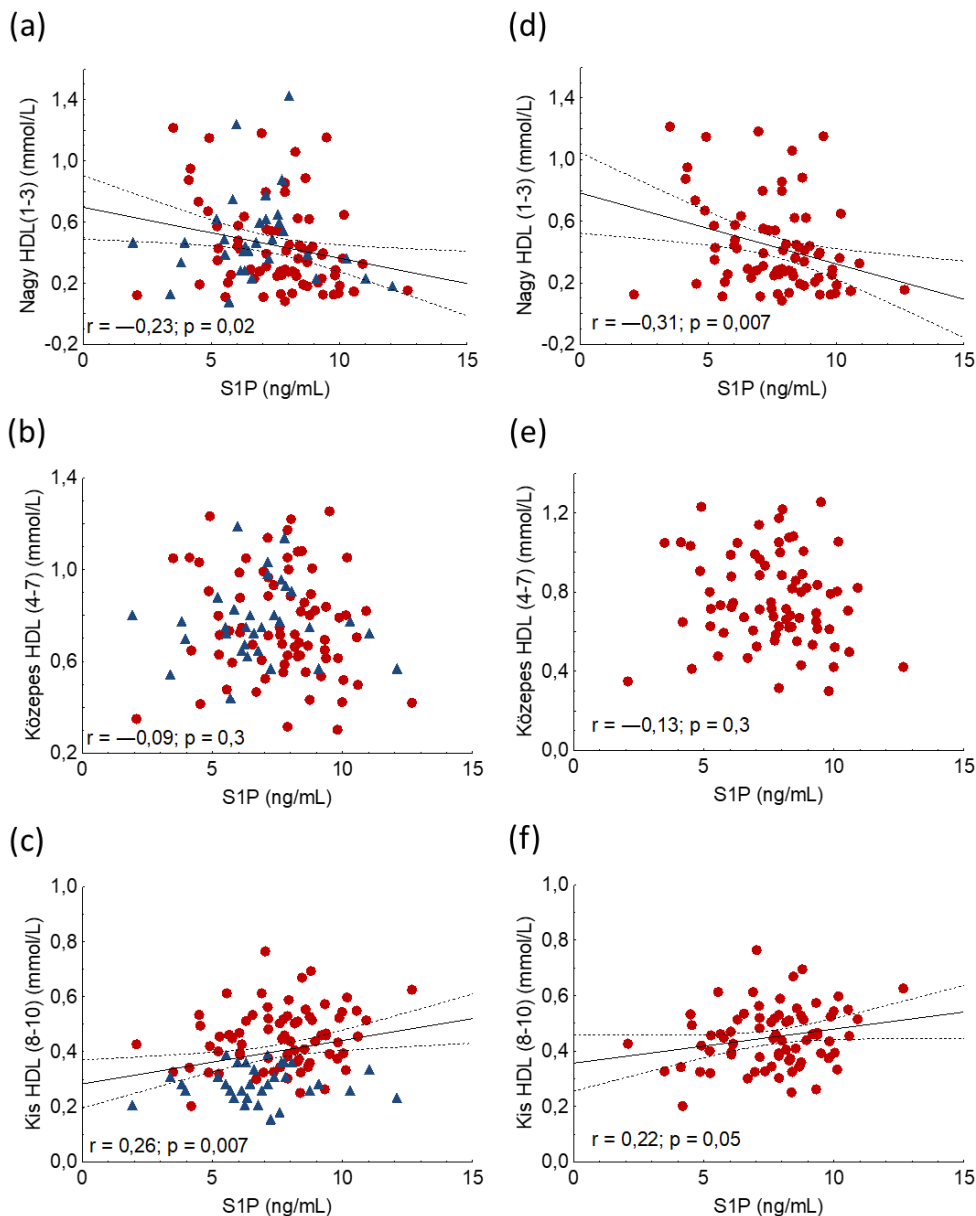
3. táblázat. A lipoprotein szubfrakciók aránya és koncentrációja a különböző vizsgálati populációkban. Az értékek átlag±standard deviáció vagy medián (alsó kvartilis-felső kvartilis) formában vannak megadva.

	HeFH betegek	Kontrollok	p
VLDL (%)	19,76±5,8	16,95±2,2	0,01
VLDL (mmol/l)	1,77±0,66	0,868±0,17	<0,001
Midband (IDL) (%)	28,89±4,5	29,83±4,9	ns
Midband (IDL) (mmol/l)	2,52±0,62	1,505±0,38	<0,001
LDL szubfrakciók			
nagy LDL (%)	27,3±5,5	20,9±5,8	<0,001
kis LDL (%)	3,2 (1,1-11,0)	0,5 (0-0,8)	<0,001
nagy LDL (mmol/l)	2,29 (2,05-2,64)	1,047 (0,827-1,344)	<0,001
kis LDL (mmol/l)	0,18 (0,05-0,79)	0,026 (0-0,052)	<0,001
Átlagos LDL méret (nm)	26,78±0,58	27,26±0,37	<0,05
HDL szubfrakciók			
nagy HDL (%)	24,7±11,0	30,2±8,9	0,02
közepes HDL (%)	46,0±4,9	50,6±4,7	<0,001
kis HDL (%)	29,3±10,6	19,2±5,4	<0,001
nagy HDL (mmol/L)	0,35 (0,231-0,571)	0,453 (0,31-0,608)	<0,001
közepes HDL (mmol/L)	0,72 (0,613-0,932)	0,750 (0,659-0,853)	<0,05
kis HDL (mmol/L)	0,452 (0,374-0,523)	0,284 (0,246-0,336)	<0,01

HDL: nagy sűrűségű lipoprotein; HeFH: heterozigóta familiáris hiperkoleszterinémia; IDL: közepes sűrűségű lipoprotein; LDL: alacsony sűrűségű lipoprotein; VLDL: nagyon alacsony sűrűségű lipoprotein

5.4 S1P szintek és HDL szubfrakciók összefüggése HeFH betegekben és a kontrollokban

Szignifikáns negatív korrelációt találtunk a nagy HDL szubfrakció és az S1P szint között a teljes vizsgálati populációban és a HeFH betegekben (11. a és b ábra). A közepes HDL szubfrakció nem korrelált az S1P szinttel (11. c és d ábra). A kis HDL szubfrakció pozitívan korrelált az S1P szinttel a teljes populációt tekintve és a HeFH betegek körében (11. e és f ábra).

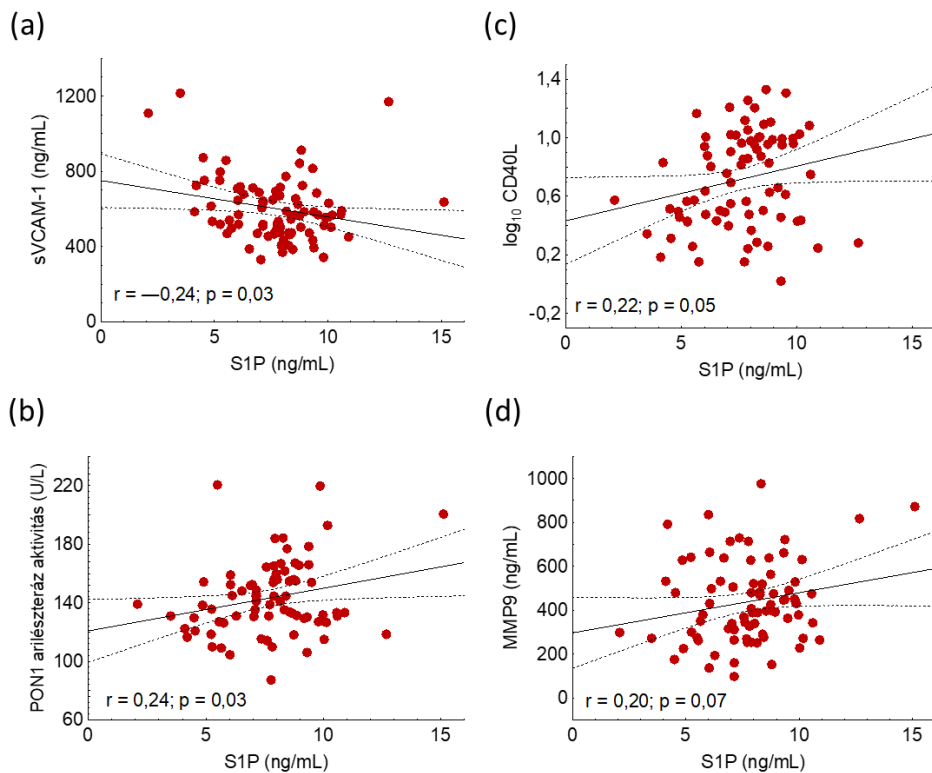


11.ábra. Nagy HDL szubfrakció koncentrációja és az S1P szint összefüggése a teljes vizsgálati populációban (a) és HeFH betegekben (b). Közepes HDL szubfrakció koncentrációja és az S1P szint összefüggése a teljes vizsgálati populációban (c) és HeFH betegekben (d). Kis HDL szubfrakció koncentrációja és az S1P szint összefüggése a teljes vizsgálati populációban (e) és HeFH betegekben (f).

HDL: alacsony sűrűségű lipoprotein; HeFH: heterozigóta familiáris hiperkoleszterinémia; S1P: szfingozin-1 foszfát. A piros pontok a HeFH, míg a kék háromszögek a kontroll személyeket jelölik.

5.5 Az S1P szintek és a sVCAM-1, PON1, sCD40L és a MMP-9 szintek közötti összefüggés HeFH betegekben

Szignifikáns negatív korrelációt figyeltünk meg a sVCAM-1 és az S1P szint között HeFH betegekben. Szignifikáns pozitív korrelációt találtunk a PON1 arilészteráz aktivitás, sCD40L és az S1P szint között (**12. ábra**). Az S1P/ApoM arány szignifikáns negatív korrelációt mutatott az sVCAM-1 szinttel ($r=-0,197$; $p=0,037$), míg pozitív korrelációt találtunk az S1P/ApoM aránya és a sCD40L szintje esetén ($r=0,28$; $p=0,00027$).



12. ábra. A sVCAM-1, PON1 arilészteráz aktivitás, logCD40L, MMP-9 és S1P szint közötti összefüggések HeFH betegekben.

CD40L: CD40 ligand; MMP-9: mátrix metalloproteináz-9; PON1: humán paraoxonáz-1; S1P: szfingozin-1 foszfát; sVCAM-1: szolubilis vaszkuláris celluláris adhézions molekula-1

5.6 Az S1P független prediktorai

Többszörös regressziós analízist végeztünk, amelynek eredménye szerint az S1P szint független prediktora a PON1 arilészteráz aktivitás ($\beta = 0,281$; $p < 0,01$) és a nagy HDL aránya ($\beta = 0,35$; $p < 0,001$). Az elemzésbe a következő változókat vettük bele: triglicerid logaritmus, nagy HDL (%), kis HDL (%), sVCAM-1, ApoM, PON1 arilészteráz aktivitás, MMP-9, sCD40L logaritmus. (**4. táblázat**).

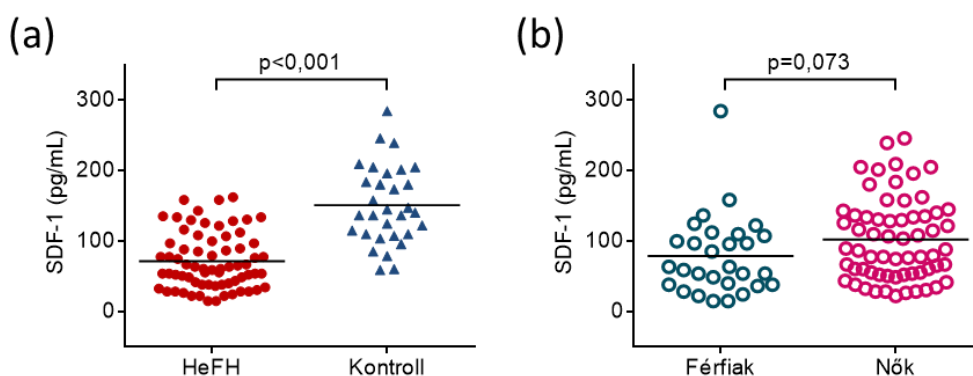
4. táblázat. Többszörös regressziós analízis az S1P szint legjobb prediktorainak meghatározására.

Változó	β	p érték
\log_{10} triglicerid	0,1	0,5
Nagy HDL (%)	0,35	<0,01
Kis HDL (%)	0,136	0,8
sVCAM-1	-0,13	0,2
ApoM	-0,1	0,2
PON1 arileszteráz aktivitás	0,281	<0,001
MMP-9	0,142	0,3
\log_{10} sCD40L	-0,16	0,7

ApoM: apolipoprotein M; HDL: nagy sűrűségű lipoprotein; MMP-9: mátrix metalloproteináz-9; PON1: human paraoxonáz-1; sCD40L: szolubilis CD40 ligand; sVCAM-1: szolubilis vaszkuláris adhéziós molekula-1.

5.7 Az SDF-1 szintek HeFH betegekben és kontrollok esetén

Szignifikánsan alacsonyabb SDF-1 szintet találtunk HeFH betegekben a kontrollokhoz viszonyítva ($71,3 \pm 39,7$ vs. $150,6 \pm 55,4$ pg/ml, $p < 0,001$) (**13. a ábra**). Továbbá a nők esetén tendenciózan magasabb SDF-1 szint volt megfigyelhető a férfiakhoz képest (**13. b ábra**). Nem találtunk szignifikáns különbséget az SDF-1 szint tekintetében nők és férfiak között a HeFH betegek esetében ($78,2 \pm 39,9$ vs. $59,1 \pm 36,9$ pg/ml, $p = 0,07$) és a kontrollokban sem ($166,5 \pm 55,3$ vs. $129,8 \pm 66,6$ pg/ml, $p = 0,14$).

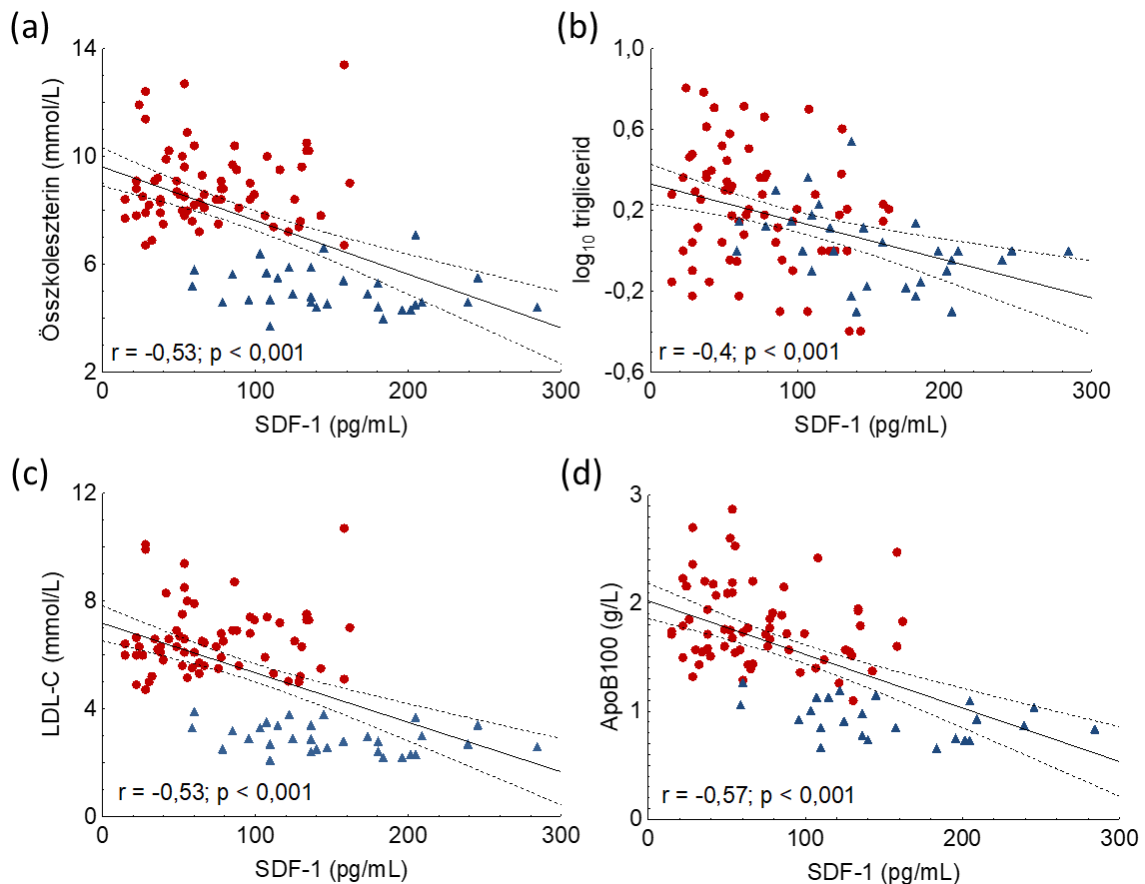


13. ábra. SDF-1 szérumszint HeFH betegekben és kontrollokban (a). SDF-1 szérumszintek nők és férfiak esetén a teljes vizsgálati populációban (b).

HeFH: heterozigóta familiáris hiperkoleszterinémia; SDF-1: stromaeredetű faktor-1

5.8. Az SDF-1 szintek és az összkoleszterin, triglicerid, LDL-C, valamint az ApoB100 összefüggése HeFH betegekben és a kontrollok esetén

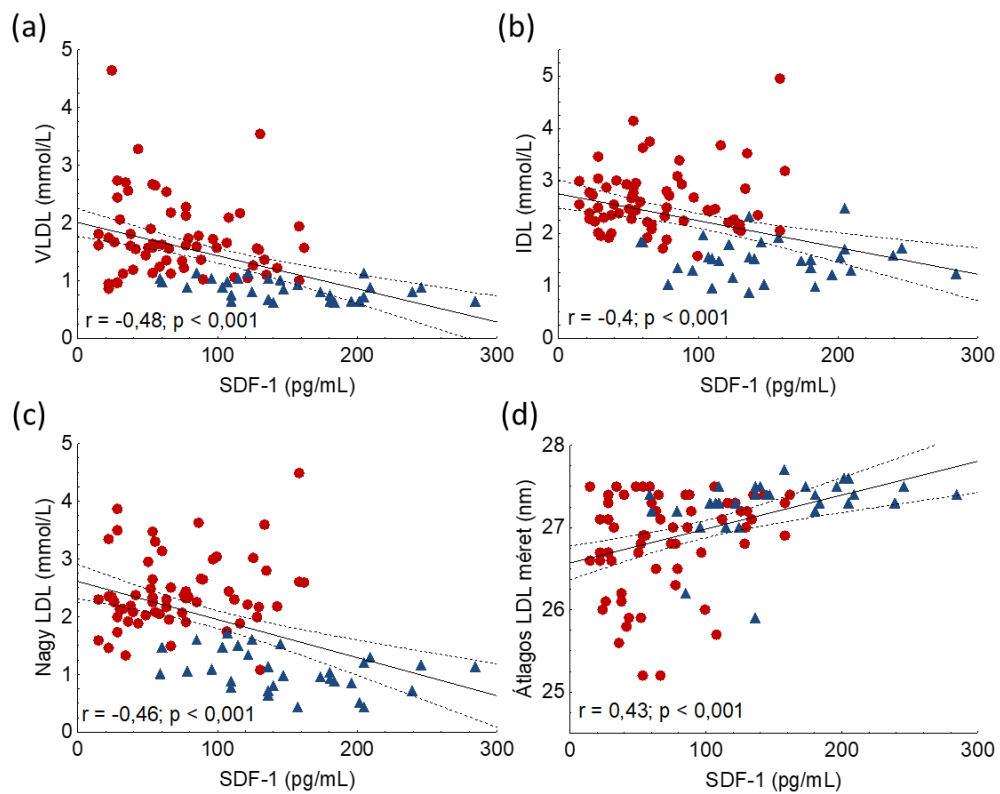
Szignifikáns negatív korrelációt találtunk az SDF-1 szint és az összkoleszterin, a triglicerid, az LDL-C és az ApoB100 szintek között a teljes vizsgálati populációban (14. ábra).



14. ábra. Összefüggések az összkoleszterin (a), a triglicerid (b), az LDL-C (c), valamint az ApoB100 (d) és az SDF-1 szint között HeFH betegekben (piros pontok, $n=81$) és kontrollok esetén (kék háromszögek, $n=32$).

ApoB100: apolipoprotein B100; LDL-C: alacsony denzitású lipoprotein koleszterin; SDF-1: stromaeredetű faktor-1

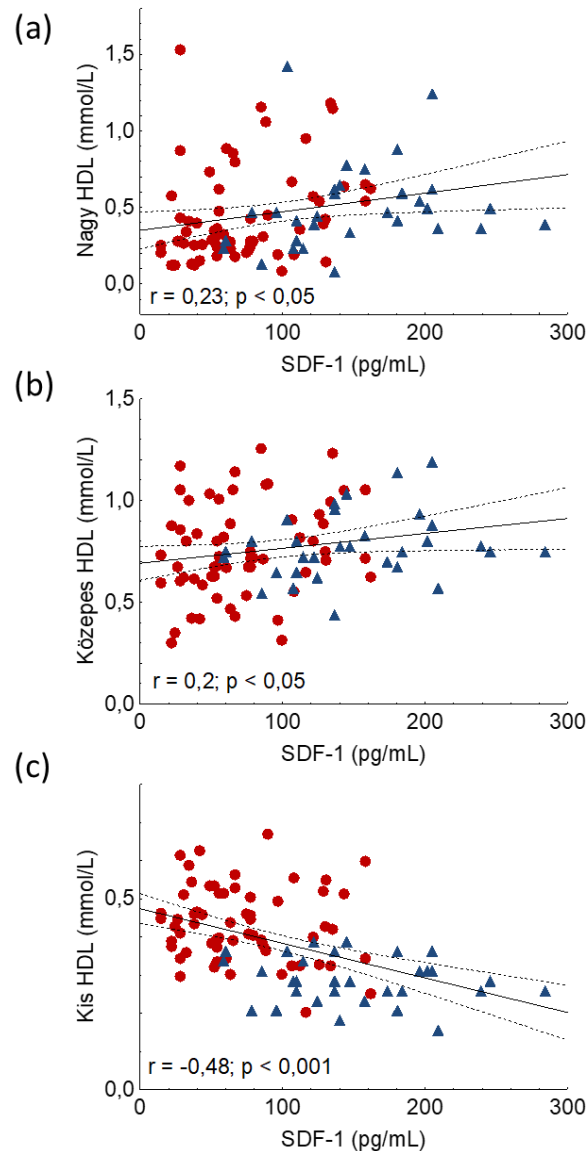
Nem találtunk szignifikáns összefüggést a HDL-C, az ApoA1 és az SDF-1 szint között. Szignifikáns negatív korrelációt észleltünk a VLDL, az IDL és nagy LDL szubfrakciók tekintetében, míg az átlagos LDL méret pozitív korrelációt mutatott az SDF-1 szinttel a teljes vizsgálati populációban (15. ábra).



15. ábra. Összefüggések a VLDL (a), IDL (b), nagy LDL szubfrakció (c), átlagos LDL méret (d) és az SDF-1 szint között HeFH betegekben (piros pontok, $n=81$) és a kontrollok esetén (kék háromszögek, $n=32$).

IDL: közepes sűrűségű lipoprotein; LDL: alacsony sűrűségű lipoprotein; SDF-1: stromaeredetű faktor-1; VLDL: nagyon alacsony sűrűségű lipoprotein

Az SDF-1 szint pozitív korrelációt mutatott a nagy és közepes HDL szubfrakciókkal, míg a kis HDL szubfrakcióval negatívan korrelált (**16. ábra**).



16. ábra. Összefüggések a nagy HDL (a), a közepes HDL (b), kis HDL (c) és az SDF-1 szintek között HeFH betegeknél (piros pontok, n=81) és a kontrollok esetén (kék háromszögek, n=32).

HDL: alacsony sűrűségű lipoprotein; SDF-1: stromaeredetű faktor-1

Az SDF-1 szint negatív korrelációt mutatott az oxLDL szinttel ($r=-0,51; p=0,01$) és az MPO aktivitás logaritmikusan kifejezett értékével (lgMPO) ($r=-0,33; p<0,001$).

Nem találtunk szignifikáns összefüggést más oxidatív és gyulladási markerek, mint a hsCRP, TNF α , sICAM-1, sVCAM-1, sCD40L vagy a PON1 arilesteráz aktivitás tekintetében.

5.9. Az SDF-1 szint prediktorai

Többszörös regressziós analízist végeztünk annak meghatározására, hogy mely változók a szérum SDF-1 szint független prediktorai. Az első modellben (Modell 1) az összkoleszterin, triglicerid, LDL-C, ApoB100, VLDL, IDL, nagy LDL, átlagos LDL méret, nagy HDL, közepes HDL, kicsi HDL, oxLDL és MPO szintet vizsgáltuk (**5. táblázat**).

A második modellben (Modell 2) a változókat biológiai relevanciájuk alapján szelektáltuk, az összkoleszterin, triglicerid, ApoB100, VLDL, átlagos LDL méret, nagy HDL, kicsi HDL, oxLDL és MPO szintet vizsgáltuk (**5. táblázat**). Mindkét statisztikai modellben a VLDL és az oxLDL volt az SDF-1 szint független prediktora.

5. táblázat. Az egyváltozós és többváltozós analízis eredményei a változók és az SDF-1 szint között

	Egyváltozós		Többváltozós		Többváltozós	
	analízis		analízis		analízis	
	r	p érték	Modell 1 β^*	p érték	Modell 2 β^*	p érték
Életkor (év)	-0,18	0,082				
Nem (férfi/nő)	0,19	0,073				
Testtömeg index (kg/m ²)	-0,21	0,061				
Éhgyomri glükóz (mmol/l)	-0,13	0,189				
Összkoleszterin (mmol/l)	-0,53	<0,001	0,123	0,548	0,126	0,485
log ₁₀ triglicerid	-0,40	<0,001	0,161	0,355	0,105	0,503
LDL-C (mmol/l)	-0,53	<0,001	-0,01	0,993		
ApoB100 (g/l)	-0,57	<0,001	-0,11	0,770	-0,21	0,475
VLDL (mmol/l)	-0,48	<0,001	-0,49	<0,001	-0,48	<0,001
IDL (mmol/l)	-0,40	<0,001	-0,04	0,888		
Nagy LDL (mmol/l)	-0,46	<0,001	-0,001	0,995		
Átlagos LDL méret (mmol/l)	0,43	<0,001	-0,08	0,675	-0,01	0,945
HDL-C (mmol/l)	0,07	0,496				
ApoA1	0,01	0,891				
Nagy HDL (mmol/l)	0,23	<0,05	-0,16	0,453	-0,03	0,873
Közepes HDL (mmol/l)	0,20	<0,05	0,085	0,462		
Kis HDL (mmol/l)	-0,48	<0,001	-0,22	0,063	-0,24	0,067
Oxidált LDL (U/l)	-0,51	0,01	-0,31	<0,001	-0,32	0,006
log ₁₀ MPO	-0,33	<0,001	-0,13	0,279	-0,13	0,275

ApoA1: apolipoprotein A1; ApoB100: apolipoprotein B100; HDL-C: nagy sűrűségű lipoprotein koleszterin; IDL: közepes sűrűségű lipoprotein; LDL-C: alacsony sűrűségű lipoprotein koleszterin, MPO: mieloperoxidáz, oxLDL: oxidált LDL; VLDL; nagyon alacsony sűrűségű lipoprotein. A változók és az SDF-1 szint közötti összefüggést egyváltozós Pearson teszttel végeztük. Többszörös regressziós elemzést végeztünk annak meghatározására, hogy mely változók a szérumban SDF-1 szint legjobb prediktorai. Az 1-es modellben minden változó összefüggést mutatott az SDF-1-gyel egyváltozós analízis során. A 2-es modellben a biológiai jellemzők alapján szelektáltunk, β^* standardizált beta.

Az összefüggéseket HeFH betegekben és a kontrollokban külön is meghatároztuk, és hasonló tendenciát találtunk mind a HeFH betegek, mind a kontrollok esetén. Szignifikáns pozitív korrelációt találtunk az átlagos LDL méret, nagy HDL és az SDF-1 között HeFH betegek esetén, míg az SDF-1 és triglicerid, valamint VLDL esetén szignifikáns negatív korrelációt találtunk a kontrollokban (**6. táblázat**).

6. táblázat. A klinikai változók és a szérumban mért stromaeredetű faktor-1 (SDF-1) szintje közötti korrelációk HeFH betegek és kontrollok esetén.

	HeFH betegek		Kontrollok	
	r	p érték	r	p érték
Életkor (év)	0,11	0,374	-0,02	0,930
Nem (férfi/nő)	0,22	0,068	0,30	0,143
Testtömeg index (kg/m ²)	-0,10	0,488	-0,18	0,379
Éhgyomri glükóz (mmol/L)	-0,05	0,691	0,06	0,733
Összkoleszterin (mmol/l)	0,03	0,783	-0,21	0,255
log ₁₀ triglicerid	-0,22	0,069	-0,36	0,044
LDL-C (mmol/l)	0,08	0,535	-0,30	0,102
ApoB100 (g/l)	-0,16	0,188	-0,37	0,074
VLDL (mmol/l)	-0,17	0,189	-0,44	0,014
IDL (mmol/l)	0,11	0,383	0,01	0,967
Nagy LDL (mmol/l)	0,19	0,131	-0,35	0,057
Átlagos LDL méret (nm)	0,26	0,041	0,33	0,069
HDL-C (mmol/l)	0,12	0,320	0,18	0,339
ApoA1 (g/l)	0,06	0,626	0,04	0,871
Nagy HDL (mmol/l)	0,27	0,032	0,19	0,297
Közepes HDL (mmol/l)	0,23	0,067	0,23	0,216
Kis HDL (mmol/l)	-0,14	0,278	-0,17	0,375
Oxidált LDL (U/L)	-0,02	0,856	-0,29	0,113
log ₁₀ MPO	-0,10	0,395	0,01	0,960

A szignifikáns korrelációkat (p<0,05) félkövér betűvel jelöltük.

Rövidítések: ApoA1: apolipoprotein A1; ApoB100: apolipoprotein B100; HDL-C: nagy sűrűségű lipoprotein koleszterin; IDL; közepes sűrűségű lipoprotein; LDL-C: alacsony sűrűségű lipoprotein koleszterin; MPO: mieloperoxidáz; oxLDL: oxidált LDL; VLDL; nagyon alacsony sűrűségű lipoprotein.

Megjegyzés: A változók közötti összefüggést Pearson-féle univariációs teszttel vizsgáltuk.

6. Az új eredmények összefoglalása

A kezeletlen HeFH betegekben és nemben, valamint BMI-ben illesztett kontroll csoportban:

- A szérum ApoM és S1P szintek szignifikánsan magasabbak voltak HeFH betegek esetén a kontroll csoporthoz viszonyítva.
- Szignifikáns negatív korrelációt találtunk a nagy HDL szubfrakció és az S1P szint között a teljes vizsgálati populációban és a HeFH betegekben.
- Szignifikáns pozitív korrelációt találtunk a kis HDL szubfrakció és az S1P szint között a teljes vizsgálati populációban és a HeFH betegekben.
- Szignifikáns negatív korrelációt figyeltünk meg a sVCAM-1 és S1P szintek között HeFH betegekben. Szignifikáns pozitív korrelációt találtunk a PON1 arileszteráz aktivitás, sCD40L és az S1P szintek között.
- Az S1P/ApoM arány szignifikáns negatív korrelációt mutatott az sVCAM-1 szintjével, míg pozitív korrelációt találtunk az S1P/ApoM aránya és a sCD40L esetén.
- Többszörös regressziós elemzést végeztünk, amelynek eredménye szerint az S1P szint független prediktora a PON1 arileszteráz aktivitás és a nagy HDL aránya.

Továbbá:

- Szignifikánsan alacsonyabb SDF-1 szintet találtunk HeFH betegekben a kontrollokhoz viszonyítva.
- Szignifikáns negatív korrelációt találtunk az SDF-1 szint és az összkoleszterin, a triglicerid, az LDL-C és az ApoB100 szintek között a teljes vizsgálati populációban.
- Szignifikáns negatív korrelációt észleltünk az IDL és nagy LDL szubfrakciók tekintetében, míg az átlagos LDL méret pozitív korrelációt mutatott az SDF-1 szinttel a teljes vizsgálati populációban.
- Az SDF-1 szint pozitív korrelációt mutatott a nagy és közepes HDL szubfrakciókkal, míg negatív korrelációt találtunk az SDF-1 szint és a kis HDL szubfrakció között.
- Az SDF1-szint negatív korrelációt mutatott az oxLDL és az MPO szinttel. Nem találtunk szignifikáns összefüggést az SDF-1 szint, illetve más oxidatív és gyulladásozó markerek, mint a hsCRP, TNF α , sICAM-1, sVCAM-1, sCD40L vagy a PON1 arileszteráz aktivitás között.
- Többszörös regressziós analízist végeztünk, mely alapján a szérum SDF-1 szint független prediktorai a VLDL és az oxLDL szint.

7. Megbeszélés

Epidemiológiai adatok bizonyítják, hogy az alacsony HDL-C szint a kardiovaszkuláris betegségek kockázati tényezője, azonban egyetlen klinikai vizsgálat sem tudta bizonyítani a HDL-C szint emelésének kedvező hatását a kardiovaszkuláris kockázat csökkentésében. A kedvező kardiovaszkuláris hatásért a HDL funkció és nem a HDL-C koncentráció a felelős, így a HDL funkció javítása releváns terápiás célpont lehet, figyelembe véve a HDL számos ateroprotektív funkcióját (52, 76-78). A terápiás célpontok kiválasztásában a szabályozó útvonalak pontosabb megismerése és a szabályozásban résztvevő biomarkerek azonosítása lehet az első lépés. A HDL-hez kötött S1P fontos oki szerepet tölt be számos HDL funkcióban, mint például az endoteliális homeosztázis fenntartásában, az artériás vazodilatációban és a kardioprotektivitásban (79, 80). A legtöbb eddigi vizsgálatban egészséges egyéneken tanulmányozták a HDL funkciót, így azonban hiányoztak a HDL diszfunkciót eredményező HDL-S1P tengely betegség asszociált változásai, tehát a HDL diszfunkció számos aspektusa tisztázatlan (81). Az általunk elvégzett klinikai vizsgálat volt az első, amely HeFH betegcsoportban tanulmányozta az S1P szintjét, HDL szubfrakciók megoszlását, a HDL funkciót és a gyulladáshoz kapcsolódó markerek változását. Korábbi kis létszámú HeFH betegcsoporton végzett vizsgálatoktól eltérően magasabb S1P és ApoM szintet találtunk HeFH betegekben. Egy korábbi vizsgálattal ellentétben (82), az S1P és ApoM koncentrációk hasonlóak voltak HeFH betegekben vaszkuláris szövődmények esetén és vaszkuláris szövődményektől mentes esetekben is. Korábban nem vizsgálták az S1P és ApoM szérumszintjét nagyobb, nem rokon FH beteg populációban.

Korábbi prospektív vizsgálatok eredményei igazolták, hogy számos gyulladáskeltő biomarker használható a későbbi kardiovaszkuláris esemény bekövetkezésének előrejelzésére. Ezen biomarkerek az érlemezés folyamatának több fázisában vesznek részt a habos sejt képződéstől egészen a plakk ruptúra kialakulásáig. Míg az inflammatorikus citokinek és adhéziós molekulák, mint a sVCAM-1, sICAM-1, szintjének emelkedése az aterogenezis korai fázisában figyelhető meg; addig az oxLDL, MMP-k, sCD40L szintek növekedése a plakk destabilizálódása és a közelgő plakk ruptúra esetén detektálhatóak (83). Az általunk vizsgált HeFH betegekben a szérumszint S1P negatív korrelációt mutatott az sVCAM-1 szinttel, míg az sCD40L koncentráció között pozitív korreláció, az MMP-9 esetében pedig pozitív tendencia figyelhető meg. Korábbi vizsgálatok bizonyítják, hogy az S1P transzportjára a HDL-asszociált ApoM felelős, amely az S1P1 és annak 3 receptorán keresztül antiaterogén és vaszkuloprotektív hatásokat fejt ki (84), míg az S1PR2-n keresztül a makrofágok ateroszklerotikus plakkban történő retencióját és az ateroszklerózis propagációját segíti elő (85). Következésképpen a

HeFH betegekben mért magasabb ApoM és S1P koncentrációk nem feltétlenül kedvező hatásúak. Keul és mtsai bizonyították, hogy a HDL-hez kötött S1P potens anti-inflammatorikus hatást fejt ki simaizom sejteken a TNF α által stimulált gyulladássos gének, köztük az MMP-9 gátlásával (86). Vizsgálatunkban pozitív összefüggést találtunk a szérumban S1P és MMP-9 között, ami arra enged következtetni, hogy a késői ateroszklerotikus plakokban válaszreakcióként fejeződik ki az S1P.

HeFH betegekben a HDL-asszociált enzimek funkciója gyakran megváltozik és károsodott fenotípus alakul ki (87). A HDL antioxidáns hatásaiban kulcsszerepe van a HDL felszínéhez kötött PON1 enzimnek (88). A PON1 hidrolizálja az oxidált lipideket és védi az LDL-t, valamint a biológiai membránokat a peroxidációtól, ezáltal csökkenti az endogén oxidatív stresszt, mely véd az érlemezés ellen (89). Korábban FH betegekben alacsonyabb PON1 arileszteráz aktivitást találtak (90). Ezzel szemben az MPO egy prooxidáns enzim, amelyet főképpen neutrofilek, valamint monociták termelnek és expressziója reaktív intermedierek képződéséhez vezet. Jelen vizsgálatunkban, a várttól eltérő módon magasabb PON1 arileszteráz aktivitást találtunk HeFH betegekben a kontrollokhoz viszonyítva. Fontos megjegyezni, hogy kezeletlen HeFH betegek kerültek bevonásra, hogy kiszűrjük a statinok PON1 aktivitásra gyakorolt ismert kedvező hatását (91-93). Vizsgálatunkban nem találtunk szignifikáns különbséget a PON1 paraoxonáz és sóstimulált paraoxonáz aktivitás tekintetében HeFH betegekben a kontrollokhoz viszonyítva, míg korábbi megfigyelésekhez hasonlóan magasabb oxLDL és MPO szintet találtunk, mely magasabb oxidatív stressz jelenlétére utalhat. Többszörös regressziós analízis alapján megállapítható, hogy a PON1 arileszteráz aktivitás az S1P független prediktív faktora, amely szoros kapcsolatot jelez az S1P és a HDL-asszociált antioxidáns aktivitása között.

A saját adataink összhangban vannak az irodalmi adatokkal, miszerint a nagy és közepes HDL szubfrakciók aránya és koncentrációja alacsonyabb, ezzel szemben a kis HDL szubfrakció aránya és koncentrációja magasabb HeFH betegekben a kontroll csoporthoz képest (44). Nemrégiben megjelent irodalmi adat, hogy idős, koronária betegségben nem szenvedő HeFH betegekben magasabb a nagy HDL részecskék koncentrációja, amely arra enged következtetni, hogy ezek a részecskék eltérő funkcióval bírnak, mint a kis HDL részecskék. Következésképpen elmondható, hogy a HDL szubfrakciók arányának vizsgálata pontosabb kockázatbecslést tesz lehetővé HeFH betegekben, mint a rutinszerűen alkalmazott HDL-C koncentráció meghatározása (94). Eredményeink igazolásához azonban további vizsgálatok szükségesek.

Végezetül, meg kell említenünk a vizsgálat néhány korlátját is. Nem mértük az S1P és HDL részecskék közvetlen kapcsolatát. A HDL-S1P komplex meghatározása folyadékkromatográfiai tömegspektrometriás módszerrel lehetséges, amely rendkívül időigényes és költséges módszer, nem elérhető a mindennapi klinikai gyakorlatban, így nem alkalmazható biomarkerként. Emelné továbbá a vizsgálatunk értékét a képalkotó modalitások alkalmazása az érlemeszesedés súlyosságának becslésére az aorta, az artéria carotisok és perifériás artériák érintettsége esetén. Mindezek ellenére, eredményeink felhívják a figyelmet arra, hogy HeFH betegpopulációban nagyobb, hosszú távú követéses vizsgálatokra van szükség ahhoz, hogy feltárjuk az S1P által történő szabályozó útvonalak szerepét a HDL funkciójában.

HeFH betegekben a jelentősen emelkedett LDL-C és az LDL részecskék akkumulációja az érfalban korai generalizált érlemeszesedéshez és jelentősen emelkedett kardiovaszkuláris kockázathoz vezet. Korábban számos prediktív score rendszer alkalmazását javasolták FH-s betegekben, mint az FH-Risk-Score (95) és a SAFEHEART regisztert (96), melyek olyan klasszikus kockázati tényezőket vettek figyelembe, mint az összkoleszterin és LDL-C szint. Ezen rizikóbecslő skálák alkalmazása beépült a mindennapi klinikai gyakorlatba HeFH betegek gondozása során, azonban más kockázati tényezők figyelembevétele jelentősen javíthat a rizikóbecslés pontosságán és a kimenet becslésében HeFH betegekben. Sürgető feladat tehát, hogy az LDL-C mellett további potenciális kockázati tényezőket azonosítsunk (39). Számos korábbi vizsgálatnak sem sikerült igazolnia az emelkedett LDL-C és az ateroszklerotikus kardiovaszkuláris események közötti kapcsolatot, mely további lipoprotein szubfrakciók és gyulladáscitokinek kardiovaszkuláris rizikóban betöltött szerepét valószínűsíti a HeFH betegcsoportban (43, 44). Következésképpen fontos kutatási terület az újonnan felismert kemokinek szerepének vizsgálata ebben a specifikus betegpopulációban.

Az SDF-1, másnéven CXCL12, a CXCR4 és a CXCR7 receptorokon keresztül részt vesz a gyulladáscitokinek válaszütemében és az agyi neuromodulációban (97, 98). Korábbi vizsgálatok igazolták, hogy iszkémiás stroke után az SDF-1 α és a CXCR4 upregulációja figyelhető meg az iszkémiás penumbra területén, míg a perifériás vérben az SDF-1 iszkémiás poszt-kondicionális emelkedése észlelhető a fehérje képződés fokozódásával az iszkémiás adaptáció részeként (99). Megfigyelések szerint az endotel progenitor sejtek (EPC-k) sérült vagy iszkémiás területre történő toborzásában, valamint homing-jában az SDF-1 is szerepet játszik, mely az angiogén és repair funkciók szempontjából fontos folyamat (100). Az SDF-1-nek szerepe lehet az EPC-k mobilizációjában és proliferációjában, valamint az EPC-k adhéziós kapacitásának szabályozásában a CXCR4 és CXCR7 receptorokon keresztül (101). Az SDF-1

érelmeszesedésben betöltött szerepét az artériák endotel sejtjei által termelt SDF-1 határozza meg. Az endotel sejtek által termelt SDF-1 a totál plazma SDF-1 koncentrációjának körülbelül 25 %-a, a fennmaradó részt egyéb sejtek, mint adipociták, hepatociták termelik, melyek funkcionális következményei ez idáig nem ismertek (102). Az általunk vizsgált HeFH betegcsoportban a szérumban SDF-1 koncentráció körülbelül fele volt az egészséges populáció SDF-1 koncentrációjának. A csökkent keringő SDF-1 szint hátterében az endotel sejtek csökkent termelése állhat, egyéb, az SDF-1 termelést befolyásoló, jelenleg ismeretlen mechanizmusok mellett. Habár a szérumban SDF-1 mérsékelten magasabb volt nők esetén a férfiakhoz képest, a különbség nem volt szignifikáns.

Meglehetősen kevés és ellentmondásos irodalmi adat áll rendelkezésre az SDF-1 szint és a lipid paraméterek összefüggéseit illetően. Egy kis létszámú korábbi vizsgálatban az SDF-1 szint szignifikánsan magasabb volt férfi betegek esetén mérsékelt diszlipidémia esetén a kontrollokhoz képest. Diszlipidémiás férfiak esetén alacsonyabb SDF-1 szintet találtak szürke zónás diszlipidémiás betegekhez képest, továbbá negatív tendenciát figyeltek meg az SDF-1 és összkoleszterin/HDL-C arány tekintetében. Az SDF-1 és HDL-C közötti pozitív korreláció csak nők esetén volt megfigyelhető (103). Egy a Framingham Heart Study résztvevőit vizsgáló tanulmányban a szérumban SDF-1 kvartilisek növekedésével magasabb LDL-C és triglicerid, illetve alacsonyabb HDL-C szint volt jellemző. Érdekes módon ebben a vizsgálatban az átlagos szérumban SDF-1 koncentráció 1894 pg/ml (min-max: 742 - 17633 pg/ml) volt, amely körülbelül öt-, tízszerese más vizsgálatokban talált értékekhez képest (104). A fenti irodalmi adatokkal ellentétben, jelen vizsgálatunkban szoros negatív korrelációt találtunk az SDF-1 és ApoB100-at tartalmazó lipoproteinek között, míg az SDF-1 független prediktora a VLDL szubfrakció volt. Az utóbbi eredmények azt mutatták, hogy a kardiovaszkuláris események kockázata szempontjából a VLDL jelentősége nagyobb, mint az LDL-é. Ez azzal magyarázható, hogy a VLDL nagyobb koleszterin mennyiséget szállít, mint a kis LDL, és a VLDL könnyebben rakódik le az érfali intimában, ahol alacsony fokú gyulladást okoz direkt és indirekt mechanizmusokon keresztül (105), és emellett fokozhatja az SDF-1 expresszióját. Bár az FH-ra nem jellemző a trigliceridben gazdag partikulumok emelkedett jelenléte, az FH egyre gyakrabban társul egyéb kórállapotokkal, például az elhízással, ami a trigliceridben gazdag részecskék, mint a VLDL és IDL emelkedett szintjével jár, amely magasabb triglicerid szintet eredményez. Korábbi vizsgálatok felvetették, hogy a gyulladáscsökkentő citokinek, mint a TNF α és az interleukin-6 szuppresszív hatást fejtenek ki az SDF-1 szintre férfi hiperlipidémiás betegekben (103). A saját vizsgálatunkban nem találtunk összefüggést a gyulladáscsökkentő markerek és az SDF-

1 között. A magasabb hsCRP által jelzett fokozott szisztémás gyulladás csökkentheti az SDF-1 termelést HeFH betegekben.

Korábban nem vizsgálták az SDF-1 és a lipid szubfrakciók közötti összefüggéseket. A HeFH betegekben szignifikánsan magasabb kis sűrű LDL koncentrációt, alacsonyabb átlagos LDL méretet, alacsonyabb nagy és közepes HDL szubfrakció arányt, ezzel szemben magasabb kis HDL szubfrakció arányt találtunk a kontrollokhoz képest, ahogy azt korábban közöltük (44). Eredményeink szerint az SDF-1 szint pozitív korrelációt mutatott az átlagos LDL mérettel, a nagy és közepes HDL szubfrakciókkal, bár a megfigyelések jelentőségének igazolása céljából további vizsgálatok szükségesek.

Az oxLDL elősegíti a koronária érlemezés kialakulását azáltal, hogy fokozza a cellularitást, a makrofág aktivációt, a habos sejtek differenciálódását, a simaizomsejt proliferációt és csökkenti az endoteliális NO termelést. Az MPO az oxidatív stressz kialakulásának egyik kulcsszereplője, amely oxLDL képződéshez vezet. Az oxLDL vagy az oxLDL ellen képződő endogén antitestek jelenléte pedig szoros összefüggésbe hozható a kardiovaszkuláris betegségek kialakulásával, ezáltal biomarkerként használtak (106). Az oxLDL prognosztikus szerepe FH-ban azonban nem kellően bizonyított. Az LDL oxidáció mértéke nem mutatott összefüggést az előzményben szereplő kardiovaszkuláris betegséggel férfi HeFH betegek esetén, és nem találtak szignifikáns összefüggést a plazma LDL-C koncentrációja és az LDL oxidáció mértéke között (107). Nem találtak összefüggést a carotis intima-media vastagság és az oxidatív paraméterek, keringő antitestek és oxLDL között egy nagyobb kohorsz vizsgálatban HeFH betegekben (107). Egy másik vizsgálatban az antitest titereket hasonlították az oxLDL szintjéhez homozigóta és heterozigóta FH betegekben, azonban nem találtak szignifikáns összefüggést az érlemezés súlyossága és az antitest titer között (108). A scavenger receptor lectin-like oxLDL receptor-1 (LOX1) rs11053646 genotípusa magasabb szolubilis receptor szintet eredményezett, mely fokozta a plakk instabilitást és a koronária betegség prediktora volt HeFH betegekben (109). Az ellentmondó eredmények felhívják a figyelmet arra, hogy a klinikai gyakorlatban az oxLDL értelmezése körültekintést igényel. Az oxLDL egy összefoglaló kifejezés, mely az LDL lipid alkotórészein, valamint az ApoB-n végbemenő heterogén oxidatív változásokat reprezentálja. Az LDL nem-oxidatív változásai, mint például a deszializáció szintén számos aterogén hatást fejthet ki, amelyet szintén figyelembe kell venni (110). Az irodalmi adatoknak megfelelően a szérumban oxLDL és MPO koncentráció szignifikánsan magasabb volt az általunk vizsgált HeFH betegekben a kontrollokhoz képest (111). Érdekes módon negatív korrelációt figyeltünk meg az oxLDL és MPO, valamint SDF-1 között a vizsgált populációban, amely új eredmény. Az

oxLDL bizonyult a keringő SDF-1 független prediktorának, amely valószínűsíti az oxidatív stressz szabályozó szerepét az SDF-1 termelésben.

Korábbi vizsgálatok bizonyították, hogy az atorvastatin hatására emelkedik az SDF-1 α szintje *in vivo* iszkémiás-reperfúziós károsodás esetén (112). Atorvastatin indukált SDF-1 α upreguláció volt megfigyelhető akut miokardális infarktus esetén patkányokban az NO-termelés anti-inflammatorikus és anti-apoptotikus hatásain keresztül (113). Szintén leírták, hogy a szérumban miR-548j-5p hozzájárul az angiogenezis patológiás folyamataihoz az EPC-k migrációjának és az érképződés elősegítése révén, mely összefüggést mutat az eNOS és SDF-1 szinttel. Tehát a miR-548j-5p upregulációja fokozza az érújdonképződést, amely arra enged következtetni, hogy az SDF-1 egy potenciális terápiás célpont lehet PAD esetén (114). Továbbá az NO-donor MPC-1011 stimulálja az angiogenezist és arteriogenezist, javítja a végtagi iszkémiát cGMP-dependens útvonalon, mely magában foglalja a VEGF-et és SDF-1 α -t (115). Mindezek alapján új stratégiák tervezhetőek a keringő SDF-1 szint emelése érdekében HeFH betegekben, habár a kardiovaszkuláris prevencióban is megfigyelhető hatás bizonyításához további vizsgálatok szükségesek.

Vizsgálatunk limitációit érdemes megemlítenünk. Az SDF-1 szabályozó útvonalait és a lipoprotein anyagcsere direkt szabályozó mechanizmusait nem vizsgáltuk. A DLCN diagnosztikus kritériumokat széleskörben alkalmazzák az FH diagnosztikában, mely tartalmazza az LDL-C szintet, a klinikai megjelenést, a családban előforduló korai szív-, érrendszeri betegségek előfordulását, beleértve a koronária betegséget és a PAD-t, melyek alapján az összesített pontszám szerint “definitív”, “valószínű” vagy “lehetséges” az FH diagnózis. Emellett “definitív” az FH diagnózis, amennyiben jelen van valamely patogén mutáció az FH-asszociált génekben. A DLCN kritériumok néhány korlátját azonban meg kell említenünk. A külső manifesztációk megjelenése nem gyakori, a családi anamnézis pedig gyakran nem elérhető vagy megbízhatatlan. A DNS meghatározás nem elérhető széleskörben és a genetikai vizsgálat eredménye néhány esetben nincs összhangban az FH fenotípusával (116). Továbbá fiatal FH betegekben a DLCN kritériumok alábecsülik az FH fennállásának valószínűségét. Mindezek ellenére eredményeink felhívják a figyelmet az SDF-1 aterogenezisben betöltött szerepére HeFH betegekben.

8. Összefoglalás

A nagy sűrűségű lipoprotein (HDL)-hez kötött apolipoproteinM/szfingozin-1-foszfát (ApoM/S1P) komplex egy kapocsként szolgál a HDL és az endotel sejtek között a kardiovaszkuláris betegségekben, biztosítva az ép endoteliális barriert. A stromaeredetű faktor-1 (SDF-1) egy kemokin, mely sokoldalú hatást fejt ki az érlelmeszesedés folyamatában, azonban összefüggése a hiperlipidémiával meglehetősen ellentmondásos.

Korábban HeFH betegek körében nem vizsgálták a szérumban S1P, ApoM és SDF-1 összefüggéseit a lipid paraméterekkel, lipid szubfrakciókkal, valamint a gyulladásos markerekkel. Nyolcvanegy kezeletlen HeFH beteget és 32 egészséges kontroll személyt vontunk be a vizsgálatunkba. A szérumban SDF-1, S1P, ApoM, oxLDL, MPO, MMP-9, sCD40L, sICAM-1, sVCAM-1 és TNF α koncentrációk meghatározása ELISA módszerrel történt. A lipoprotein szubfrakciók elválasztására akrilamid gélelektroforézist (Lipoprint) alkalmaztunk. A PON1 enzim aktivitását spektrofotometriás módszerrel mértük. Az FH diagnózisának felállításához a Dutch Lipid Clinic Network Kritériumrendszerrel használtuk.

Szignifikánsan magasabb S1P és ApoM szinteket találtunk HeFH betegekben a kontrollokhöz képest. Negatív korrelációt figyeltünk meg az S1P és nagy HDL szubfrakció között, míg pozitív korrelációt találtunk az S1P és kis HDL szubfrakció között HeFH betegekben és a teljes vizsgálati populációban. Szignifikáns pozitív korrelációt találtunk az S1P és sCD40L szint, MMP-9 szint és a PON1 arileszteráz aktivitás között, míg szignifikáns negatív korrelációt figyeltünk meg az S1P és sVCAM-1 között HeFH betegekben. A szérumban S1P független prediktorai a nagy HDL szubfrakció és a PON1 arileszteráz aktivitás.

Szignifikánsan alacsonyabb SDF-1 koncentrációt találtunk HeFH betegekben a kontrollokhöz képest. Szignifikáns negatív korrelációt figyeltünk a szérumban SDF-1 és az összkoleszterin, triglicerid, LDL-C és ApoB100 szintek között. Negatív összefüggés volt a szérumban SDF-1 és VLDL, IDL, nagy LDL, nagy HDL és közepes HDL szubfrakció között, míg pozitív korrelációt találtunk az átlagos LDL méret, kis HDL és SDF-1 között. Negatív korrelációt találtunk az SDF-1 és oxLDL, illetve MPO között. A szérumban SDF-1 független előrejelzői az oxLDL szint és a VLDL szubfrakció.

A magasabb S1P és ApoM szintek, valamint a megfigyelt összefüggéseik a HDL szubfrakciókkal, illetve gyulladásos markerekkel HeFH betegek esetén, feltételezik az S1P és ApoM lehetséges szabályozó szerepét az intakt endoteliális funkció fenntartásában. Az SDF-1 és lipid frakciók, valamint lipid szubfrakciók között megfigyelt szoros összefüggések felhívják a figyelmet az SDF-1 és a lipidadyagszere közös útvonalaira, illetőleg valószínűsítik az SDF-1 szabályozó szerepét az érlelmeszesedés folyamatában.

9. Summary

High-density lipoprotein (HDL)-associated apolipoprotein M/sphingosine 1-phosphate (ApoM/S1P) complex act as a bridge between HDL and endothelial cells in cardiovascular disease, maintaining a healthy endothelial barrier. Stromal cell-derived factor-1 (SDF-1) is a chemokine that play diversified roles in the process of atherosclerosis. Although, its association with hyperlipidemia is contradictory.

To date, serum S1P, ApoM, SDF-1, and its correlations with lipid and inflammatory parameters and lipid subfractions in HeFH subjects have not been investigated. Eighty-one untreated HeFH patients and thirty-two healthy control subjects were enrolled in this study. Serum SDF-1, S1P, ApoM, oxLDL, MPO, MMP-9, sCD40L, sICAM-1, sVCAM-1 and TNF α concentrations were determined by ELISA. Lipoprotein subfractions were detected by Lipoprint. PON1 activities were measured spectrophotometrically. For the diagnose of FH we used the Dutch Lipid Clinic Network criteria.

Significantly higher S1P and ApoM levels were detected in HeFH patients compared to the controls. There was a negative correlation between S1P and large HDL, and a positive correlation was observed between S1P and small HDL subfractions in HeFH patients and in the whole study population. Significant positive correlations were found between S1P and sCD40L, MMP-9 levels and PON1 arylesterase activity, while significant negative correlation was detected between sVCAM-1 and S1P in HeFH patients. A backward stepwise multiple regression analysis showed that the best predictors of serum S1P were large HDL subfraction and arylesterase activity.

We found significantly lower SDF-1 concentrations in HeFH patients compared to the controls. We detected significant negative correlations between serum total cholesterol, triglycerides, LDL-C, ApoB100 and SDF-1. Negative correlations were observed between serum SDF-1 and VLDL and IDL, as well as large LDL, large and intermediate HDL subfractions, while positive correlation was found between mean LDL size, small HDL, and SDF-1. There was a negative correlation between SDF-1 and oxLDL and MPO. The best predictors of serum SDF-1 were VLDL and oxLDL.

Higher S1P and ApoM levels and their correlations with HDL subfractions and inflammatory markers in HeFH patients support their potential regulatory role in the endothelial protection. The strong correlation of SDF-1 and lipid fractions and subfractions highlights the potential common pathways of SDF-1 and lipoprotein metabolism, that assume the role of SDF-1 in atherogenesis.

10. Tárgyszavak

Tárgyszavak magyarul:

Stomaeredetű faktor-1, Szfingozin-1-foszfát, Apolipoprotein M, Familiáris hiperkoleszterinémia, Alacsony sűrűségű lipoprotein és nagy sűrűségű lipoprotein szubfrakciók

Tárgyszavak angolul:

Stromal cell-derived factor-1, Sphingosine 1-phosphate, Apolipoprotein M, Familial hypercholesterolemia, Low-density lipoprotein and high-density lipoprotein subfractions

11. Köszönetnyilvánítás

Köszönöm Prof. Dr. Balla Józsefnek, a DE KK Belgyógyászati Klinika igazgatójának és Prof. Dr. Paragh Györgynek, a DE ÁOK Belgyógyászati Intézet Anyagcsere Betegségek Tanszék vezetőjének, hogy lehetővé tette a tanszéken folyó tudományos munkában való részvételemet. Köszönöm Prof. Dr. Papp Máriának, a DE KK Gasztroenterológiai Klinika igazgatójának, hogy támogatta az Anyagcsere Betegségek Tanszéken folyó tudományos munkában való részvételemet.

Köszönetemet szeretném kifejezni témavezetőmnek, Prof. Dr. Harangi Mariann egyetemi tanárnak, aki támogatta és irányította a tudományos és laboratóriumi munkámat, segítséget nyújtott a vizsgálatok megtervezésében és a felmerülő kérdések megvitatásában.

Köszönöm Dr. Seres Ildikó Tanárnőnek, Dr. Katkó Mónikának, Dr. Lőrincz Hajnalkának és Dr. Szentpéteri Anitának a laboratóriumi munkámban nyújtott segítséget.

Köszönetemet szeretném kifejezni a DE ÁOK Belgyógyászati Intézet Anyagcsere Betegségek Tanszék Kutatólaboratórium dolgozóinak és tudományos közleményeim társszerzőinek, akik segítettek és támogatták tudományos munkámat.

Hálával tartozom a családomnak és barátaimnak a támogatásukért. Köszönöm szüleimnek, testvéremnek a türelmet, hogy végig kísérték ezen az úton. Köszönöm gyermekemnek és páromnak, hogy szeretetükkel támogattak a munkám során.

Vizsgálatainkat a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alap (OTKA K142273) támogatta.

Készült a TKP2021-EGA-18 számú projekt támogatásával, mely az Innovációs és Technológiai Minisztérium Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Alapból nyújtott támogatásával, a TKP2021-EGA pályázati program finanszírozásában valósult meg.

12. Irodalom

1. Stone NJ. Secondary causes of hyperlipidemia. *Med Clin North Am.* 1994;78(1):117-41.
2. Bułdak Ł, Marek B, Kajdaniuk D, Urbanek A, Janyga S, Bołdys A, et al. Endocrine diseases as causes of secondary hyperlipidemia. *Endokrynol Pol.* 2019;70(6):511-9.
3. Berberich AJ, Hegele RA. A modern approach to dyslipidemia. *Endocr Rev.* 2021.
4. Tokgozoglu L, Kayikcioglu M. Familial Hypercholesterolemia: Global Burden and Approaches. *Curr Cardiol Rep.* 2021;23(10):151.
5. Vrablik M, Tichý L, Freiburger T, Blaha V, Satny M, Hubacek JA. Genetics of Familial Hypercholesterolemia: New Insights. *Front Genet.* 2020;11:574474.
6. Moldovan V, Banescu C, Dobreanu M. Molecular diagnosis methods in familial hypercholesterolemia. *Anatol J Cardiol.* 2020;23(3):120-7.
7. Paragh G, Harangi M, Karányi Z, Daróczy B, Németh Á, Fülöp P. Identifying patients with familial hypercholesterolemia using data mining methods in the Northern Great Plain region of Hungary. *Atherosclerosis.* 2018;277:262-6.
8. Nohara A, Tada H, Ogura M, Okazaki S, Ono K, Shimano H, et al. Homozygous Familial Hypercholesterolemia. *J Atheroscler Thromb.* 2021;28(7):665-78.
9. Fahed AC, Nemer GM. Familial hypercholesterolemia: the lipids or the genes? *Nutr Metab (Lond).* 2011;8(1):23.
10. Madar L, Juhász L, Szűcs Z, Kerkovits L, Harangi M, Balogh I. Establishing the Mutational Spectrum of Hungarian Patients with Familial Hypercholesterolemia. *Genes (Basel).* 2022;13(1).
11. Berberich AJ, Hegele RA. The complex molecular genetics of familial hypercholesterolaemia. *Nat Rev Cardiol.* 2019;16(1):9-20.
12. Nordestgaard BG, Chapman MJ, Humphries SE, Ginsberg HN, Masana L, Descamps OS, et al. Familial hypercholesterolaemia is underdiagnosed and undertreated in the general population: guidance for clinicians to prevent coronary heart disease: consensus statement of the European Atherosclerosis Society. *Eur Heart J.* 2013;34(45):3478-90a.
13. Vuorio A, Watts GF, Kovanen PT. Lipoprotein(a) as a risk factor for calcific aortic valvulopathy in heterozygous familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis.* 2019;281:25-30.

14. Jarauta E, Junyent M, Gilabert R, Plana N, Mateo-Gallego R, de Groot E, et al. Sonographic evaluation of Achilles tendons and carotid atherosclerosis in familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2009;204(2):345-7.
15. Zech LA, Hoeg JM. Correlating corneal arcus with atherosclerosis in familial hypercholesterolemia. *Lipids Health Dis*. 2008;7:7.
16. Altschmiedová T, Vaclová M, Vráblík M. Diagnosis of Familial Hypercholesterolaemia on First Sight? The Role of the Ophthalmologist in Identifying Patients with Familial Hypercholesterolaemia. *Cesk Slov Oftalmol*. 2019;74(4):127-31.
17. Austin MA, Hutter CM, Zimmern RL, Humphries SE. Genetic causes of monogenic heterozygous familial hypercholesterolemia: a HuGE prevalence review. *Am J Epidemiol*. 2004;160(5):407-20.
18. Al-Rasadi K, Al-Waili K, Al-Sabti HA, Al-Hinai A, Al-Hashmi K, Al-Zakwani I, Banerjee Y. Criteria for Diagnosis of Familial Hypercholesterolemia: A Comprehensive Analysis of the Different Guidelines, Appraising their Suitability in the Omani Arab Population. *Oman Med J*. 2014;29(2):85-91.
19. Williams RR, Hunt SC, Schumacher MC, Hegele RA, Leppert MF, Ludwig EH, Hopkins PN. Diagnosing heterozygous familial hypercholesterolemia using new practical criteria validated by molecular genetics. *Am J Cardiol*. 1993;72(2):171-6.
20. Risk of fatal coronary heart disease in familial hypercholesterolaemia. Scientific Steering Committee on behalf of the Simon Broome Register Group. *BMJ*. 1991;303(6807):893-6.
21. Vuorio A, Kuoppala J, Kovanen PT, Humphries SE, Tonstad S, Wiegman A, et al. Statins for children with familial hypercholesterolemia. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017;7(7):CD006401.
22. Versmissen J, Oosterveer DM, Yazdanpanah M, Defesche JC, Basart DC, Liem AH, et al. Efficacy of statins in familial hypercholesterolaemia: a long term cohort study. *BMJ*. 2008;337:a2423.
23. Hamilton-Craig I, Kostner K, Colquhoun D, Woodhouse S. Combination therapy of statin and ezetimibe for the treatment of familial hypercholesterolemia. *Vasc Health Risk Manag*. 2010;6:1023-37.
24. Ballantyne CM, Laufs U, Ray KK, Leiter LA, Bays HE, Goldberg AC, et al. Bempedoic acid plus ezetimibe fixed-dose combination in patients with hypercholesterolemia and high CVD risk treated with maximally tolerated statin therapy. *Eur J Prev Cardiol*. 2020;27(6):593-603.

25. Santos RD, Stein EA, Hovingh GK, Blom DJ, Soran H, Watts GF, et al. Long-Term Evolocumab in Patients With Familial Hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol*. 2020;75(6):565-74.
26. Pérez de Isla L, Díaz-Díaz JL, Romero MJ, Muñiz-Grijalvo O, Mediavilla JD, Argüeso R, et al. Alirocumab and Coronary Atherosclerosis in Asymptomatic Patients with Familial Hypercholesterolemia: The ARCHITECT Study. *Circulation*. 2023;147(19):1436-43.
27. Raal FJ, Kallend D, Ray KK, Turner T, Koenig W, Wright RS, et al. Inclisiran for the Treatment of Heterozygous Familial Hypercholesterolemia. *N Engl J Med*. 2020;382(16):1520-30.
28. Raal FJ, Santos RD, Blom DJ, Marais AD, Charng MJ, Cromwell WC, et al. Mipomersen, an apolipoprotein B synthesis inhibitor, for lowering of LDL cholesterol concentrations in patients with homozygous familial hypercholesterolaemia: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2010;375(9719):998-1006.
29. Cuchel M, Meagher EA, du Toit Theron H, Blom DJ, Marais AD, Hegele RA, et al. Efficacy and safety of a microsomal triglyceride transfer protein inhibitor in patients with homozygous familial hypercholesterolaemia: a single-arm, open-label, phase 3 study. *Lancet*. 2013;381(9860):40-6.
30. Raal FJ, Rosenson RS, Reeskamp LF, Hovingh GK, Kastelein JJP, Rubba P, et al. Evinacumab for Homozygous Familial Hypercholesterolemia. *N Engl J Med*. 2020;383(8):711-20.
31. Bergmark BA, Marston NA, Bramson CR, Curto M, Ramos V, Jevne A, et al. Effect of Vupanorsen on Non-High-Density Lipoprotein Cholesterol Levels in Statin-Treated Patients With Elevated Cholesterol: TRANSLATE-TIMI 70. *Circulation*. 2022;145(18):1377-86.
32. Mabuchi H, Koizumi J, Shimizu M, Kajinami K, Miyamoto S, Ueda K, Takegoshi T. Long-term efficacy of low-density lipoprotein apheresis on coronary heart disease in familial hypercholesterolemia. Hokuriku-FH-LDL-Apheresis Study Group. *Am J Cardiol*. 1998;82(12):1489-95.
33. Fu Q, Hu L, Shen T, Yang R, Jiang L. Recent Advances in Gene Therapy for Familial Hypercholesterolemia: An Update Review. *J Clin Med*. 2022;11(22).
34. Neefjes LA, Ten Kate GJ, Alexia R, Nieman K, Galema-Boers AJ, Langendonk JG, et al. Accelerated subclinical coronary atherosclerosis in patients with familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2011;219(2):721-7.

35. Sijbrands EJ, Westendorp RG, Defesche JC, de Meier PH, Smelt AH, Kastelein JJ. Mortality over two centuries in large pedigree with familial hypercholesterolaemia: family tree mortality study. *BMJ*. 2001;322(7293):1019-23.
36. Alonso R, Mata N, Castillo S, Fuentes F, Saenz P, Muñiz O, et al. Cardiovascular disease in familial hypercholesterolaemia: influence of low-density lipoprotein receptor mutation type and classic risk factors. *Atherosclerosis*. 2008;200(2):315-21.
37. Di Taranto MD, Giacobbe C, Fortunato G. Familial hypercholesterolemia: A complex genetic disease with variable phenotypes. *Eur J Med Genet*. 2020;63(4):103831.
38. Guay SP, Brisson D, Lamarche B, Gaudet D, Bouchard L. Epipolymorphisms within lipoprotein genes contribute independently to plasma lipid levels in familial hypercholesterolemia. *Epigenetics*. 2014;9(5):718-29.
39. Berta E, Zsíros N, Bodor M, Balogh I, Lőrincz H, Paragh G, Harangi M. Clinical Aspects of Genetic and Non-Genetic Cardiovascular Risk Factors in Familial Hypercholesterolemia. *Genes (Basel)*. 2022;13(7).
40. Kraft HG, Lingenhel A, Raal FJ, Hohenegger M, Utermann G. Lipoprotein(a) in homozygous familial hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20(2):522-8.
41. Németh Á, Daróczy B, Juhász L, Fülöp P, Harangi M, Paragh G. Assessment of Associations Between Serum Lipoprotein (a) Levels and Atherosclerotic Vascular Diseases in Hungarian Patients With Familial Hypercholesterolemia Using Data Mining and Machine Learning. *Front Genet*. 2022;13:849197.
42. Friedlander Y, Leitersdorf E. Segregation analysis of plasma lipoprotein(a) levels in pedigrees with molecularly defined familial hypercholesterolemia. *Genet Epidemiol*. 1995;12(2):129-43.
43. Bianconi V, Banach M, Pirro M, (ILEP) ILEP. Why patients with familial hypercholesterolemia are at high cardiovascular risk? Beyond LDL-C levels. *Trends Cardiovasc Med*. 2021;31(4):205-15.
44. Nádró B, Lőrincz H, Juhász L, Szentpéteri A, Sztanek F, Varga É, et al. Determination of Serum Progranulin in Patients with Untreated Familial Hypercholesterolemia. *Biomedicines*. 2022;10(4).
45. Kontush A, Lindahl M, Lhomme M, Calabresi L, Chapman MJ, Davidson WS. Structure of HDL: particle subclasses and molecular components. *Handb Exp Pharmacol*. 2015;224:3-51.

46. Wiesner P, Leidl K, Boettcher A, Schmitz G, Liebisch G. Lipid profiling of FPLC-separated lipoprotein fractions by electrospray ionization tandem mass spectrometry. *J Lipid Res.* 2009;50(3):574-85.
47. Shah AS, Tan L, Long JL, Davidson WS. Proteomic diversity of high density lipoproteins: our emerging understanding of its importance in lipid transport and beyond. *J Lipid Res.* 2013;54(10):2575-85.
48. Deng S, Xu Y, Zheng L. HDL Structure. *Adv Exp Med Biol.* 2022;1377:1-11.
49. Soran H, Schofield JD, Durrington PN. Antioxidant properties of HDL. *Front Pharmacol.* 2015;6:222.
50. Sviridov D, Mukhamedova N, Remaley AT, Chin-Dusting J, Nestel P. Antiatherogenic functionality of high density lipoprotein: how much versus how good. *J Atheroscler Thromb.* 2008;15(2):52-62.
51. Kuivenhoven JA, Groen AK. Beyond the genetics of HDL: why is HDL cholesterol inversely related to cardiovascular disease? *Handb Exp Pharmacol.* 2015;224:285-300.
52. Navab M, Reddy ST, Van Lenten BJ, Fogelman AM. HDL and cardiovascular disease: atherogenic and atheroprotective mechanisms. *Nat Rev Cardiol.* 2011;8(4):222-32.
53. Xu N, Dahlbäck B. A novel human apolipoprotein (apoM). *J Biol Chem.* 1999;274(44):31286-90.
54. Axler O, Ahnström J, Dahlbäck B. An ELISA for apolipoprotein M reveals a strong correlation to total cholesterol in human plasma. *J Lipid Res.* 2007;48(8):1772-80.
55. Christoffersen C, Ahnström J, Axler O, Christensen EI, Dahlbäck B, Nielsen LB. The signal peptide anchors apolipoprotein M in plasma lipoproteins and prevents rapid clearance of apolipoprotein M from plasma. *J Biol Chem.* 2008;283(27):18765-72.
56. Christoffersen C, Benn M, Christensen PM, Gordts PL, Roebroek AJ, Frikke-Schmidt R, et al. The plasma concentration of HDL-associated apoM is influenced by LDL receptor-mediated clearance of apoB-containing particles. *J Lipid Res.* 2012;53(10):2198-204.
57. Christoffersen C, Nielsen LB, Axler O, Andersson A, Johnsen AH, Dahlbäck B. Isolation and characterization of human apolipoprotein M-containing lipoproteins. *J Lipid Res.* 2006;47(8):1833-43.
58. Faber K, Hvidberg V, Moestrup SK, Dahlbäck B, Nielsen LB. Megalin is a receptor for apolipoprotein M, and kidney-specific megalin-deficiency confers urinary excretion of apolipoprotein M. *Mol Endocrinol.* 2006;20(1):212-8.

59. Zhang B, Tomura H, Kuwabara A, Kimura T, Miura S, Noda K, et al. Correlation of high density lipoprotein (HDL)-associated sphingosine 1-phosphate with serum levels of HDL-cholesterol and apolipoproteins. *Atherosclerosis*. 2005;178(1):199-205.
60. Nádró B, Juhász L, Szentpéteri A, Páll D, Paragh G, Harangi M. [The role of apolipoprotein M and sphingosine 1-phosphate axis in the prevention of atherosclerosis]. *Orv Hetil*. 2018;159(5):168-75.
61. Christoffersen C, Obinata H, Kumaraswamy SB, Galvani S, Ahnström J, Sevvana M, et al. Endothelium-protective sphingosine-1-phosphate provided by HDL-associated apolipoprotein M. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108(23):9613-8.
62. Bode C, Sensken SC, Peest U, Beutel G, Thol F, Levkau B, et al. Erythrocytes serve as a reservoir for cellular and extracellular sphingosine 1-phosphate. *J Cell Biochem*. 2010;109(6):1232-43.
63. Yu Y, Guo S, Feng Y, Feng L, Cui Y, Song G, et al. Phospholipid transfer protein deficiency decreases the content of S1P in HDL via the loss of its transfer capability. *Lipids*. 2014;49(2):183-90.
64. Argraves KM, Sethi AA, Gazzolo PJ, Wilkerson BA, Remaley AT, Tybjaerg-Hansen A, et al. S1P, dihydro-S1P and C24:1-ceramide levels in the HDL-containing fraction of serum inversely correlate with occurrence of ischemic heart disease. *Lipids Health Dis*. 2011;10:70.
65. Nofer JR, van der Giet M, Tölle M, Wolinska I, von Wnuck Lipinski K, Baba HA, et al. HDL induces NO-dependent vasorelaxation via the lysophospholipid receptor S1P3. *J Clin Invest*. 2004;113(4):569-81.
66. Kimura T, Sato K, Kuwabara A, Tomura H, Ishiwara M, Kobayashi I, et al. Sphingosine 1-phosphate may be a major component of plasma lipoproteins responsible for the cytoprotective actions in human umbilical vein endothelial cells. *J Biol Chem*. 2001;276(34):31780-5.
67. Theilmeyer G, Schmidt C, Herrmann J, Keul P, Schäfers M, Herrgott I, et al. High-density lipoproteins and their constituent, sphingosine-1-phosphate, directly protect the heart against ischemia/reperfusion injury in vivo via the S1P3 lysophospholipid receptor. *Circulation*. 2006;114(13):1403-9.
68. González-Díez M, Rodríguez C, Badimon L, Martínez-González J. Prostacyclin induction by high-density lipoprotein (HDL) in vascular smooth muscle cells depends on sphingosine 1-phosphate receptors: effect of simvastatin. *Thromb Haemost*. 2008;100(1):119-26.

69. O'Brien N, Jones ST, Williams DG, Cunningham HB, Moreno K, Visentin B, et al. Production and characterization of monoclonal anti-sphingosine-1-phosphate antibodies. *J Lipid Res.* 2009;50(11):2245-57.
70. Murata N, Sato K, Kon J, Tomura H, Yanagita M, Kuwabara A, et al. Interaction of sphingosine 1-phosphate with plasma components, including lipoproteins, regulates the lipid receptor-mediated actions. *Biochem J.* 2000;352 Pt 3:809-15.
71. Brulhart-Meynet MC, Braunersreuther V, Brinck J, Montecucco F, Prost JC, Thomas A, et al. Improving reconstituted HDL composition for efficient post-ischemic reduction of ischemia reperfusion injury. *PLoS One.* 2015;10(3):e0119664.
72. Owen JL, Mohamadzadeh M. Macrophages and chemokines as mediators of angiogenesis. *Front Physiol.* 2013;4:159.
73. Liang Z, Brooks J, Willard M, Liang K, Yoon Y, Kang S, Shim H. CXCR4/CXCL12 axis promotes VEGF-mediated tumor angiogenesis through Akt signaling pathway. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007;359(3):716-22.
74. Petit I, Jin D, Rafii S. The SDF-1-CXCR4 signaling pathway: a molecular hub modulating neo-angiogenesis. *Trends Immunol.* 2007;28(7):299-307.
75. Rosenson RS, Brewer HB, Chapman MJ, Fazio S, Hussain MM, Kontush A, et al. HDL measures, particle heterogeneity, proposed nomenclature, and relation to atherosclerotic cardiovascular events. *Clin Chem.* 2011;57(3):392-410.
76. Kingwell BA, Chapman MJ, Kontush A, Miller NE. HDL-targeted therapies: progress, failures and future. *Nat Rev Drug Discov.* 2014;13(6):445-64.
77. Harangi M, Szentpéteri A, Nádró B, Lőrincz H, Seres I, Páll D, Paragh g. HDL subfraction distribution and HDL function in untreated dyslipidemic patients. *Vessel Plus.* 2017;1:166-73.
78. Reddy ST, Navab M, Anantharamaiah GM, Fogelman AM. Searching for a successful HDL-based treatment strategy. *Biochim Biophys Acta.* 2014;1841(1):162-7.
79. Levkau B. HDL-S1P: cardiovascular functions, disease-associated alterations, and therapeutic applications. *Front Pharmacol.* 2015;6:243.
80. Poti F, Simoni M, Nofer JR. Atheroprotective role of high-density lipoprotein (HDL)-associated sphingosine-1-phosphate (S1P). *Cardiovasc Res.* 2014;103(3):395-404.
81. Badimon JJ, Santos-Gallego CG. HDL Dysfunction: Is the Answer in the Sphinx's Riddle? *J Am Coll Cardiol.* 2015;66(13):1486-8.

82. Versmissen J, Vongpromek R, Yahya R, van der Net JB, van Vark-van der Zee L, Blommesteijn-Touw J, et al. Familial hypercholesterolaemia: cholesterol efflux and coronary disease. *Eur J Clin Invest*. 2016;46(7):643-50.
83. Koenig W, Khuseyinova N. Biomarkers of atherosclerotic plaque instability and rupture. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2007;27(1):15-26.
84. Therond P, Chapman MJ. Sphingosine-1-phosphate: metabolism, transport, atheroprotection and effect of statin treatment. *Curr Opin Lipidol*. 2022;33(3):199-207.
85. Skoura A, Michaud J, Im DS, Thangada S, Xiong Y, Smith JD, Hla T. Sphingosine-1-phosphate receptor-2 function in myeloid cells regulates vascular inflammation and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011;31(1):81-5.
86. Keul P, Polzin A, Kaiser K, Gräler M, Dannenberg L, Daum G, et al. Potent anti-inflammatory properties of HDL in vascular smooth muscle cells mediated by HDL-S1P and their impairment in coronary artery disease due to lower HDL-S1P: a new aspect of HDL dysfunction and its therapy. *FASEB J*. 2019;33(1):1482-95.
87. Pedro-Botet J, Climent E, Benaiges D. Familial Hypercholesterolemia: Do HDL Play a Role? *Biomedicines*. 2021;9(7).
88. Barter PJ, Rye KA. HDL cholesterol concentration or HDL function: which matters? *Eur Heart J*. 2017;38(32):2487-9.
89. Camps J, Castañé H, Rodríguez-Tomás E, Baiges-Gaya G, Hernández-Aguilera A, Arenas M, et al. On the Role of Paraoxonase-1 and Chemokine Ligand 2 (C-C motif) in Metabolic Alterations Linked to Inflammation and Disease. A 2021 Update. *Biomolecules*. 2021;11(7).
90. Idrees M, Siddiq AR, Ajmal M, Akram M, Khalid RR, Hussain A, et al. Decreased serum PON1 arylesterase activity in familial hypercholesterolemia patients with a mutated LDLR gene. *Genet Mol Biol*. 2018;41(3):570-7.
91. Himbergen TM, van Tits LJ, Voorbij HA, de Graaf J, Stalenhoef AF, Roest M. The effect of statin therapy on plasma high-density lipoprotein cholesterol levels is modified by paraoxonase-1 in patients with familial hypercholesterolaemia. *J Intern Med*. 2005;258(5):442-9.
92. Ferretti G, Bacchetti T, Sahebkar A. Effect of statin therapy on paraoxonase-1 status: A systematic review and meta-analysis of 25 clinical trials. *Prog Lipid Res*. 2015;60:50-73.
93. Harangi M, Seres I, Harangi J, Paragh G. Benefits and difficulties in measuring HDL subfractions and human paraoxonase-1 activity during statin treatment. *Cardiovasc Drugs Ther*. 2009;23(6):501-10.

94. Melnes T, Bogsrud MP, Thorsen I, Fossum J, Christensen JJ, Narverud I, et al. What characterizes event-free elderly FH patients? A comprehensive lipoprotein profiling. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2022;32(7):1651-60.
95. Paquette M, Dufour R, Baass A. The Montreal-FH-SCORE: A new score to predict cardiovascular events in familial hypercholesterolemia. *J Clin Lipidol.* 2017;11(1):80-6.
96. Pérez de Isla L, Alonso R, Mata N, Fernández-Pérez C, Muñiz O, Díaz-Díaz JL, et al. Predicting Cardiovascular Events in Familial Hypercholesterolemia: The SAFEHEART Registry (Spanish Familial Hypercholesterolemia Cohort Study). *Circulation.* 2017;135(22):2133-44.
97. Zhu Y, Murakami F. Chemokine CXCL12 and its receptors in the developing central nervous system: emerging themes and future perspectives. *Dev Neurobiol.* 2012;72(10):1349-62.
98. Thelen M, Thelen S. CXCR7, CXCR4 and CXCL12: an eccentric trio? *J Neuroimmunol.* 2008;198(1-2):9-13.
99. Jiang G, Li X, Liu M, Li H, Shen H, Liao J, et al. Remote ischemic postconditioning ameliorates stroke injury via the SDF-1 α /CXCR4 signaling axis in rats. *Brain Res Bull.* 2023;197:31-41.
100. Li Y, Chang S, Li W, Tang G, Ma Y, Liu Y, et al. cxcl12-engineered endothelial progenitor cells enhance neurogenesis and angiogenesis after ischemic brain injury in mice. *Stem Cell Res Ther.* 2018;9(1):139.
101. Dai X, Yan X, Zeng J, Chen J, Wang Y, Li Y, et al. Elevating CXCR7 Improves Angiogenic Function of EPCs via Akt/GSK-3 β /Fyn-Mediated Nrf2 Activation in Diabetic Limb Ischemia. *Circ Res.* 2017;120(5):e7-e23.
102. Döring Y, van der Vorst EPC, Duchene J, Jansen Y, Gencer S, Bidzhekov K, et al. CXCL12 Derived From Endothelial Cells Promotes Atherosclerosis to Drive Coronary Artery Disease. *Circulation.* 2019;139(10):1338-40.
103. Li SL, Lin W, Zhang Y, Zheng ZC, Liu LJ, Fu H, et al. Stromal cell-derived factor-1 α as a novel biomarker for hyperlipidemia. *Tohoku J Exp Med.* 2012;228(4):355-63.
104. Subramanian S, Liu C, Aviv A, Ho JE, Courchesne P, Muntendam P, et al. Stromal cell-derived factor 1 as a biomarker of heart failure and mortality risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2014;34(9):2100-5.
105. Castillo-Núñez Y, Morales-Villegas E, Aguilar-Salinas CA. Triglyceride-Rich Lipoproteins: Their Role in Atherosclerosis. *Rev Invest Clin.* 2022;74(2):061-70.

106. Hartley A, Haskard D, Khamis R. Oxidized LDL and anti-oxidized LDL antibodies in atherosclerosis - Novel insights and future directions in diagnosis and therapy. *Trends Cardiovasc Med.* 2019;29(1):22-6.
107. Van Tits L, De Graaf J, Hak-Lemmers H, Bredie S, Demacker P, Holvoet P, Stalenhoef A. Increased levels of low-density lipoprotein oxidation in patients with familial hypercholesterolemia and in end-stage renal disease patients on hemodialysis. *Lab Invest.* 2003;83(1):13-21.
108. Paiker JE, Raal FJ, von Arb M. Auto-antibodies against oxidized LDL as a marker of coronary artery disease in patients with familial hypercholesterolaemia. *Ann Clin Biochem.* 2000;37 (Pt 2):174-8.
109. Paquette M, Dufour R, Baass A. Scavenger Receptor LOX1 Genotype Predicts Coronary Artery Disease in Patients With Familial Hypercholesterolemia. *Can J Cardiol.* 2017;33(10):1312-8.
110. Mezentsev A, Bezsonov E, Kashirskikh D, Baig MS, Eid AH, Orekhov A. Proatherogenic Sialidases and Desialylated Lipoproteins: 35 Years of Research and Current State from Bench to Bedside. *Biomedicines.* 2021;9(6).
111. Ganjali S, Keshavarz R, Hosseini S, Mansouri A, Mannarino MR, Pirro M, et al. Evaluation of Oxidative Stress Status in Familial Hypercholesterolemia. *J Clin Med.* 2021;10(24).
112. Cai A, Qiu R, Li L, Zheng D, Dong Y, Yu D, et al. Atorvastatin treatment of rats with ischemia-reperfusion injury improves adipose-derived mesenchymal stem cell migration and survival via the SDF-1 α /CXCR-4 axis. *PLoS One.* 2013;8(12):e79100.
113. Qiu R, Cai A, Dong Y, Zhou Y, Yu D, Huang Y, et al. SDF-1 α upregulation by atorvastatin in rats with acute myocardial infarction via nitric oxide production confers anti-inflammatory and anti-apoptotic effects. *J Biomed Sci.* 2012;19(1):99.
114. Lee CY, Lin SJ, Wu TC. miR-548j-5p regulates angiogenesis in peripheral artery disease. *Sci Rep.* 2022;12(1):838.
115. Gomes de Almeida Schirmer B, Crucet M, Stivala S, Vucicevic G, da Silva Barcelos L, Vanhoutte PM, et al. The NO-donor MPC-1011 stimulates angiogenesis and arteriogenesis and improves hindlimb ischemia via a cGMP-dependent pathway involving VEGF and SDF-1 α . *Atherosclerosis.* 2020;304:30-8.
116. Ruel I, Brisson D, Aljenedil S, Awan Z, Baass A, Bélanger A, et al. Simplified Canadian Definition for Familial Hypercholesterolemia. *Can J Cardiol.* 2018;34(9):1210-4.

Saját közlemények listája



**DEBRECENI
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**

H-4002 Debrecen, Egyetem tér 1, Pf.: 400
Tel.: 52/410-443, e-mail: publikaciok@lib.unideb.hu

Nyilvántartási szám: DEENK/526/2023.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Séber-Juhász Lilla
Doktori Iskola: Egészségtudományok Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Juhász, L.**, Lőrincz, H., Szentpéteri, A., Tóth, N., Varga, É., Paragh, G., Harangi, M.: Decreased Serum Stromal Cell-Derived Factor-1 in Patients with Familial Hypercholesterolemia and Its Strong Correlation with Lipoprotein Subfractions.
Int. J. Mol. Sci. 24 (20), 1-14, 2023.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms242015308>
IF: 5.6 (2022)
2. **Juhász, L.**, Lőrincz, H., Szentpéteri, A., Nádró, B., Varga, É., Paragh, G., Harangi, M.: Sphingosine 1-Phosphate and Apolipoprotein M Levels and Their Correlations with Inflammatory Biomarkers in Patients with Untreated Familial Hypercholesterolemia.
Int. J. Mol. Sci. 23, 1-12, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms232214065>
IF: 5.6

További közlemények

3. Németh, Á., Daróczy, B., **Juhász, L.**, Fülöp, P., Harangi, M., Paragh, G.: Assessment of associations between serum lipoprotein (a) levels and atherosclerotic vascular diseases in Hungarian patients with familial hypercholesterolemia using data mining and machine learning.
Front. Genet. 13, 1-10, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fgene.2022.849197>
IF: 3.7
4. Nádró, B., Lőrincz, H., **Juhász, L.**, Szentpéteri, A., Sztanek, F., Varga, É., Páll, D., Paragh, G., Harangi, M.: Determination of Serum Progranulin in Patients with Untreated Familial Hypercholesterolemia.
Biomedicines. 10 (4), 1-15, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/biomedicines10040771>
IF: 4.7





5. Madar, L., **Juhász, L.**, Szűcs, Z., Kerkovits, L., Harangi, M., Balogh, I.: Establishing the Mutational Spectrum of Hungarian Patients with Familial Hypercholesterolemia.
Genes. 13 (1), 1-13, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/genes13010153>
IF: 3.5
6. Németh, Á., Harangi, M., Daróczy, B., **Juhász, L.**, Paragh, G., Fülöp, P.: Identifying Patients with Familial Chylomicronemia Syndrome Using FCS Score-Based Data Mining Methods.
J Clin Med. 11, 1-14, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/jcm11154311>
IF: 3.9
7. Harangi, M., Zsíros, N., **Juhász, L.**, Nádró, B., Paragh, G.: A lipoprotein(a) jelentősége az ateroszklerózis progressziójában.
Metabolizmus. 29 (2), 68-74, 2021.
8. **Juhász, L.**, Balogh, I., Madar, L., Kovács, B., Harangi, M.: A Rare Double Heterozygous Mutation in Low-Density Lipoprotein Receptor and Apolipoprotein B-100 Genes in a Severely Affected Familial Hypercholesterolaemia Patient.
Cureus. 12 (12), 1-5, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.7759/cureus.12184>
9. **Juhász, L.**, Nádró, B., Zsíros, N., Paragh, G., Harangi, M.: Kardiovaszkuláris kockázati tényezők előfordulási gyakorisága újonnan diagnosztizált familiáris hypercholesterinaemiás betegeinknél.
Metabolizmus. 18 (3), 174-180, 2020.
10. Nádró, B., **Juhász, L.**, Szentpéteri, A., Páll, D., Paragh, G., Harangi, M.: Az apolipoprotein M és a szfingozin-1-foszfát tengely jelentősége az érlelmeszesedés kialakulásának gátlásában.
Orvosi Hetilap. 159 (5), 168-175, 2018.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/650.2018.30980>
IF: 0.564
11. Varga, V. E., Lőrincz, H., Szentpéteri, A., **Juhász, L.**, Seres, I., Paragh, G. J., Balla, J., Paragh, G., Harangi, M.: Changes in serum afamin and vitamin E levels after selective LDL apheresis.
J. Clin. Apheresis. 33 (5), 569-575, 2018.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/jca.21636>
IF: 3.088
12. Harangi, M., **Juhász, L.**, Paragh, G.: A dyslipidaemia kezelésének új lehetőségei.
Háziorv. Továbbk. Szle. 22 (9), 643-647, 2017.
13. Harangi, M., **Juhász, L.**, Nádró, B., Paragh, G.: Az LDL aferezis helye a lipidcsökkentésben a PCSK9 gátlók bevezetését követően.
Metabolizmus. 15 (2), 79-84, 2017.





14. Harangi, M., **Juhász, L.**, Nádró, B., Balla, J., Paragh, G.: LDL apheresis or PCSK9 inhibition?
Sometimes we have to combine them.
Vessel Plus. 1, 91-95, 2017.
15. Zsíros, N., **Juhász, L.**, Paragh, G., Harangi, M.: Statin okozta mellékhatások kockázati tényezői
hyperlipidaemiás betegeinkben.
Metabolizmus. 12 (3), 178-182, 2014.
16. Harangi, M., Zsíros, N., **Juhász, L.**, Paragh, G.: Statin okozta mellékhatások: tények és gének.
Orv. Hetil. 154 (3), 83-92, 2013.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/OH.2013.29530>

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 30,652

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapján szolgáló közleményekre):
11,2**

A DEENK a Jelölt által az iDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudományometriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2023.11.28.

