

Egyetemi doktori (Ph.D.) értekezés tézisei

**A humán paraoxonáz-1 aktivitását meghatározó tényezők
veseelégtelenségben és vesetranszplantációt követően**

Dr. Varga Éva

Témavezető: Prof. Dr. Paragh György



Debreceni Egyetem

Egészségtudományok Doktori Iskola

Debrecen, 2012

A humán paraoxonáz-1 aktivitását meghatározó tényezők veseelégtelenségben és vesetranszplantációt követően

Értekezés a doktori (Ph.D.) fokozat megszerzése érdekében
az Orvostudományok tudományágban

Írta: Dr. Varga Éva okleveles általános orvos

Készült a Debreceni Egyetem Egészségtudományok Doktori Iskolája keretében
(az „Anyagszere és endokrin betegségek megelőzése és kontrollja” doktori
programban)

Témavezető: Prof. Dr. Paragh György

A doktori szigorlati bizottság:

elnök: Dr.
tagok: Dr.
Dr.

A doktori szigorlat időpontja: 201.....

Az értekezés bírálói:

Dr.
Dr.
Dr.

A bírálóbizottság:

elnök: Dr.
tagok: Dr.
Dr.
Dr.
Dr.

Az értekezés védésének időpontja: 201..... , (helye).

Bevezetés

A krónikus veseelégtelenségben (KVE-ben) szenvedő betegek életkilátásait ma már általában nem az alapbetegség, hanem döntően a szív- és érrendszeri szövödmények határozzák meg, melynek hátterében a korai érlelmeszesedés áll. A hemodialízis-programban részt vevő és a vesetranszplantált betegek kardiovaszkuláris morbiditása és mortalitása szignifikánsan magasabb az átlagpopulációnál, ezért kiemelkedően fontos a kardiovaszkuláris rizikófaktorok és a védőmechanizmusok vizsgálata krónikus veseelégtelenségben.

Az érlelmeszesedés

Az érlelmeszesedés következtében kialakuló akut miokardiális infarktus (AMI), perifériás érbetegség és stroke a fejlett országokban a morbiditás és mortalitás legfontosabb okai között szerepelnek. Korábbi vizsgálatok igazolták a dyslipidaemia, különösen az emelkedett kis sűrűségű lipoprotein-koleszterin (LDL-C), a magas vérnyomás, a dohányzás, a cukorbetegség és az elhízás proaterogén hatását, valamint felvetődött a hiperhomociszteinémia és egyes genetikai faktorok szerepe is.

Fokozzák az érlelmeszesedést a lipidprofil LDL-en kívüli változásai, elsősorban a hipertrigliceridémia, a nagy sűrűségű lipoprotein-koleszterin (HDL-C) alacsony szintje, valamint az LDL- és HDL-részecskék minőségi változásai, a kicsi, sűrű LDL (sdLDL), valamint a HDL-szubpopulációk arányának megváltozása és a HDL-en található antioxidáns enzimek csökkent aktivitása.

Az aterogén tényezők következtében az LDL érfalba jut, reaktív gyökök és enzimatisz folyamatok hatására oxidálódik, majd az endothelsejtek adhéziós molekuláinak fokozott megjelenése monocitákat és T-sejteket toboroz az intimába. A makrofágok az oxidált LDL (oxLDL) és a károsodott sejtek felvételével habos sejtékké alakulnak, és citokineket bocsátanak ki, majd lipid-depozitumok képződnek, amelyek fokozzák a gyulladási sejtek és a fibroblasztek aktivitását. Az oxLDL akkumulációja aktiválja a simaizomsejtek intimába vándorlását és proliferációját, így fibromuszkuláris plakk képződik, amely az ér lumenének

szűkítésével akadályozhatja a vér áramlását. A lipidek alkotta gyulladáshoz vezető magból álló sérülékeny plakkok rupturája vaszkuláris katasztrófához vezet. A lipid-akkumuláció és -oxidáció, valamint a plakkba gyűlő enzimek és citokinek hozzájárulnak a kötőszövetes sapka elvékonyodásához, és fokozzák annak instabilitását. A folyamatban kulcsszerepet kap a plakkban felhalmozódó oxLDL, valamint az antioxidáns HDL csökkenése.

A krónikus veseelégtelenség és a kardiovaszkuláris rizikó

Életkortól függetlenül a krónikus veseelégtelenségben szenvedő betegek egyik legsúlyosabb megbetegedése és a magas halálozás vezető oka a ischaemiás szívbetegség (ISZB). A dializált betegek már fennálló és a dialízis alatt kialakuló kardiovaszkuláris halálozása messze meghaladja az egészséges populációét. Ezt magyarázza a gyakoribb magas vérnyomás, diabetes mellitus, centrális elhízás, dyslipidaemia, hiperhomociszteinémia, a megváltozott leptintermelés. Vesebetegségre specifikusak a szérumkálcium- és foszfáteltérések, a hypoalbuminémia, a koaguláció zavarai, az alapbetegség miatt fokozott szisztémás gyulladás és megnövekedett oxidatív stressz.

Az egyik legjelentősebb rizikófaktor a szekunder dyslipidaemia, mely a lipoproteinek mennyiségi és minőségi változásával, köztük a szintézis, a metabolizmus és a transzportfolyamatok károsodásával jár. A krónikus veseelégtelenségben szenvedő betegek kb. harmada hipertrigliceridemiás, és szintén harmadukban kóros az összkoleszterinszint. A vesebetegek a legnagyobb kardiovaszkuláris rizikójú csoportba tartoznak. Sokan nem részesülnek megfelelő lipidcsökkentő terápiában.

A hemodializált betegekben megemelkedik a sdLDL-részecskék aránya. A magas trigliceridszint (TG) valószínűleg a nagyon kis sűrűségű lipoprotein-részecskék (VLDL) fokozott TG-tartalmának, továbbá a VLDL-maradékok és a közepes sűrűségű lipoprotein (IDL) emelkedésének tulajdonítható. Megemelkedik az oxLDL és a lipoprotein(a) (Lp(a)) koncentrációja is. Az aterogén dyslipidaemia egyes komponensei önmagukban is aterogének. Zavart szenved a különböző

lipoprotein-részecskék közötti, valamint a sejtektől a katabolizmus helye felé irányuló koleszterintranszport dinamikája is. Vesebetegekben eltérő lehet az érlemeszesedés mechanizmusa, és a lipidcsökkentő gyógyszerek valódi haszna sem kellően bizonyított.

A krónikus veseelégtelenség és a HDL

Az LDL-C vesebetegekben nem olyan jó előrejelzője a szív- és érrendszeri morbiditásnak és mortalitásnak, mint normál veseműködés esetén, a HDL-C viszont ebben a betegcsoportban is szignifikáns kardiovaszkuláris rizikófaktor marad. A HDL antiaterogén szerepét többek között a reverz koleszterintranszportban betöltött szerepének köszönheti, melynek eredményeként a szövetekben felhalmozódó koleszterin a májba jut, ahol kiválasztásra kerül. A májban és vékonybélben termelődő diszkoid HDL foszfolipidekből és fehérjékből (apolipoproteinekből (pl. ApoA1) és egyéb, nem struktúrális fehérjékből) épül fel. Az extrahépatikus szövetekből kijutó koleszterint a lecitin-koleszterol aciltranszferáz (LCAT) enzim észterifikálja, ezután a HDL magjába kerül, onnan a koleszterinészter-transzferprotein (CETP) alacsonyabb sűrűségű lipoproteinekbe szállítja, más részét a máj veszi fel.

A HDL-részecskében található CETP, LCAT és trombocitaaktiváló faktor acetilhidroláz (PAFAH) szintén rendelkeznek antioxidáns hatással, de közülük legjelentősebb a humán paraoxonáz-1 (PON1).

Csökken HDL-szinthez és fokozott ateroszklerózishoz vezet az ApoA1-hiány és az LCAT csökkent aktivitása. Magas HDL-C-t okoz a CETP csökkent aktivitása, (magas ISZB-rizikó mellett), míg az LCAT fokozott aktivitása a HDL-szint emelésével gátolja az ISZB kialakulását. A HDL plazmaszintjével összefügg az életkor, a nem, a fizikai aktivitás, az orális fogamzásgátlók, a triglicerid-fogyasztás, az alkohol, a dohányzás, valamint a testtömegindex (BMI). A HDL-szint csökken familiáris kombinált hiperlipidaemiában, familiáris dyslipidaemiában, familiáris hipoalfalipoproteinaemiában és Tangier-betegségben.

Veseelégtelenségben a HDL érése zavart szenved. Az LCAT csökkent és a CETP növekvő aktivitása miatt felgyorsul a HDL eltávolítása a keringésből. A fennmaradó, koleszterinészterben szegény, az alacsony hepatikus lipáz-(HL-)-aktivitás miatt trigliceridben gazdag HDL3 csökkent antioxidáns kapacitással rendelkezik. A dializált betegekből nyert HDL LDL-oxidációt gátló aktivitása károsodott lehet. A hemodialízis-programban részt vevő betegek kb. harmadában alacsony HDL-C-t találtak.

A veseátültetett betegek több mint felének HDL-C szintje alacsony, a transzplantációt követően gyakoribbá válnak a kardiovaszkuláris szövödmények. A dializált betegek HDL-státusza a koszorúér-betegségek független rizikófaktora.

A krónikus veseelégtelenség és a paraoxonáz aktivitás

A szérum paraoxonáz-aktivitásának döntő többségéért a humán szérum paraoxonáz-1 felelős. Az enzimfehérje nagy része HDL-hez kötött. A HDL3-szubfrakcióban nagyobb a koncentrációja, mint a HDL2-ben. A PON1 csökkent antioxidáns aktivitása elősegíti a korai érlemeszesedést. A PON1 a lipidperoxidok hidrolízise révén gátolja az LDL-oxidációt, így az oxidált LDL aterogén és proinflammatorikus aktivitásának gátlása révén hozzájárul a HDL érlemeszesedést gátló hatásához.

A PON1 laktonáz aktivitással is rendelkezik, és a homocisztein tiolakton hidrolízisével gátolja a fehérjék homociszteinilációját, így az ateroszklerózis kialakulását. Az enzim antiaterogén hatásában valószínűleg nem a mesterséges paraoxon (paraoxonáz-aktivitás, PON) vagy fenilacetát (arilészteráz-aktivitás, Aryl) szubsztrátokon, hanem a szervezetben található oxidált lipideken és laktonokon kifejtett aktivitása a döntő. A PON aktivitás az antioxidáns hatással, az enzimfehérje mennyisége az arileszteráz aktivitással korrelál.

A PON1 aktivitását befolyásolja a táplálék összetétele, a szérum összkoleszterin, a BMI és az inzulinrezisztencia, a gyulladási állapotok, a dohányzás, az organofoszfát-expozíció, a terhesség és szoptatás. A fenofibrát és a simvastatin növelte, többféle sztatin csökkentette a PON1-mRNS-szintet. A PON1 csökkent

arilészteráz és paraoxonáz aktivitása több, fokozott érlemeszedéssel járó állapotra jellemző (stroke, perifériás érbetegség, krónikus hepatitisek, diabetes mellitus, primer dyslipidaemia, dohányzás), melyben a megváltozott lipoprotein-metabolizmus és a megnövekedett oxidatív stressz is szerepet játszik. A PON1 aktivitása paraoxon szubsztráton alacsonyabbnak mutatkozott AMI-n átesettekben, nem találtak azonban szignifikáns összefüggést a PON1 egyéb szubsztrátokon (pl. fenilacetát) mért aktivitásával, vagy az enzimfehérje koncentrációjával. A PON1 aktivitás a miokardiális infarktus HDL koncentrációtól független rizikófaktorának bizonyult.

Krónikus veseelégtelenségben, különösen a hemodialízis programban részt vevő betegekben, valamint vesetranszplantáció után csökken a humán paraoxonáz-1 enzim (PON1) aktivitása. Kardiovaszkuláris megbetegedésben szenvedő dializált betegekben szignifikánsan alacsonyabb PON1 aktivitást találtak kardiovaszkuláris betegségtől mentes művesekezelt betegekhez viszonyítva.

A PON1 expresszióját és aktivitását részben az enzim molekuláris variabilitása határozza meg. Legjelentősebb a 192. és az 55. aminosav polimorfizmusa (PON1-192, Glu: Q, Arg: R genotípus és PON1-55, Leu: L, Met: M genotípus). A különböző szubsztrátspecifitású alloenzimek különböző mértékben és az LDL-oxidáció különböző fázisában védik az LDL-t az oxidatív károsodástól. Ezek a polimorfizmusok a PON1 aktivitásának fő determinánsai, és a korai ateroszklerózis független rizikófaktorai.

Jó veseműködésű betegekben kettős szubsztrát-módszerrel megbecsülhető a QR-genotípusok allélgyakorisága, sőt, az enzim AB-fenotípusa jobban előrejelezte a kardiovaszkuláris eseményeket, mint a QR-genotípus. A kettős szubsztrát-módszert széles körben alkalmazzák klinikai vizsgálatokban az allélfrekvencia becslésére, de csak kevés korábbi vizsgálat írta le a fenotípus és a genotípus eltérését, különösen hiányos az irodalom csökkent PON1-aktivitású betegek esetében. Olyan vizsgálatról nem tudunk, amelyben együtt vizsgálták a genotípus és a fenotípus eloszlását krónikus veseelégtelenségben, vagy vesetranszplantált betegekben.

Egészséges egyénekben 7,2%-os eltérést írtak le a PON1 genotípusa és fenotípusa között.

A krónikus veseelégtelenség és a cisztatin C

A cisztatin C kiválasztása már a KVE korai fázisban csökken, így a vesefunkció beszűkülésének kreatininnél érzékenyebb markere, ezért pozitív korrelációt mutat a kardiovaszkuláris események előfordulásával, ugyanakkor a cisztatin C ateroszklerotikus plakkot stabilizáló, védő hatású, mivel gátolja a katepszin családba tartozó ciszteinproteázok működését, melyek képesek bontani az érfalakban található extracelluláris mátrix egyes alkotórészeit. ApoE-deficiens egerekben a cisztatin C-deficiencia nagyméretű, megnövekedett makrofágtartalmú ateroszklerotikus plakkok képződésével jár.

A krónikus veseelégtelenség és a homocisztein

A homocisztein az ateroszklerotikus morbiditás és mortalitás független rizikófaktora az átlagpopulációban és krónikus veseelégtelenségben szenvedő betegekben. A homocisztein fokozza a gyulladást és az oxidatív stresszt, mivel belőle reaktív homocisztein-tiolakton keletkezik, amely károsítja a fehérjék struktúráját, és apoptosishoz vezet. A PON1 védő hatása a fehérje-homociszteinilációval szemben, mivel rendelkezik homocisztein-tiolaktonáz aktivitással. Hemodializáltakban pozitív korrelációt találtak a cisztatin C és a homocisztein között. A cisztatin C már a vesefunkció kismértékű romlását is kimutatta, amely független előrejelzője az összhomocisztein szérumszintjének vesetranszplantáción átesett betegekben. Negatív korrelációt találtak a PON1 aktivitása és a homocisztein szintje között koronária-betegekben, a cisztatin C és a PON1 viszonyát azonban korábban még nem vizsgálták.

Célkitűzés

Célul tűztük ki krónikus veseelégtelenségben szenvedő és vesetranszplantáción átesett betegekben az érlemeszesedés rizikófaktorai és az antiaterogén tényezők vizsgálatát. Értékeljük azokat a vesefunkciótól függő paramétereket, amelyek részt vesznek az oxidatív folyamatokban, és befolyásolhatják az érlemeszesedés egyes lépéseit. Olyan markereket kerestünk, amelyekkel megfelelően jellemezhetjük a vesebetegek kardiovaszkuláris rizikóstatusát. Korábbi vizsgálatok a vesebetegekben csökkent PON1-aktivitást észleltek, melyet a csökkent HDL-koncentráció következményének tartottak, mivel a HDL a szérumban található PON1 fő hordozója. Vizsgálatunk részben azon a korábbi megfigyelésünkön alapult, hogy a HDL szintje és a PON1 fenotípus-megoszlása fontos, de nem kizárólagos meghatározója lehet az enzim aktivitásának. Mivel a vesebetegek dyslipidaemiája egyes primer dyslipidaemiás betegekhez hasonlóan triglicerid- és/vagy összkoleszterin-emelkedéssel, valamint a HDL-C csökkenésével jár, betegeinket primer dyslipidaemiásokkal is összehasonlítottuk, hogy kiküszöböljük az örökletes faktorok és környezeti tényezők hatását.

- Mivel korábban nem született átfogó vizsgálat a PON1-aktivitás, -genotípus és -fenotípus megoszlási gyakoriságának felmérésére az átlagpopulációban, ezért vizsgálatunk egyik célja volt, hogy egy nagyobb referencia-populációban mérjük fel a védő hatású HDL legfontosabb antioxidáns enzime, a PON1 aktivitásának, genotípusának és fenotípusának előfordulását. Azt vizsgáltuk, különbözik-e az átlag- és betegpopuláció genotípus- és fenotípus-megoszlása, így lehet-e oki összefüggés a PON1 genotípusa, vagy fenotípusa, illetve a vesebetegség között.
- A PON1 fenotípusának és genotípusának gyakoriságát krónikus veseelégtelenségben szenvedő (KVE) és vesetranszplantált (TX) betegekben összehasonlítottuk az átlagpopulációt képviselő kontrollcsoport (K) adataival, hogy megtudjuk, van-e eltérés a fenotípus és a genotípus között krónikus veseelégtelenségben és vesetranszplantációt követően, ahol korábbi

vizsgálatunk során alacsony PON aktivitást találtunk. Arra számítottunk, hogy vesebetegekben is az átlagpopulációban észlelt különbséget találjuk.

- Megvizsgáltuk, hogyan változik betegekben a prooxidáns homocisztein, oxLDL és tiobarbitursavval reagáló anyagok (TBARS) koncentrációja. Arra számítottunk, hogy a prooxidánsok magasabb szintjét találjuk mindkét betegcsoportban.
- Vizsgáltuk a cisztatin C, a paraoxonáz aktivitás és a homocisztein összefüggését krónikus veseelégtelenségben szenvedő (KVE) és vesetranszplantált (TX) betegekben, valamint az átlagpopulációt reprezentáló kontrollcsoportban (K). Arra számítottunk, hogy összefüggés van krónikus veseelégtelenségben és vesetranszplantációt követően a vesefunkciót tükröző cisztatin C és az antioxidáns PON1 paraoxonáz aktivitása, valamint a prooxidáns homocisztein között.
- Arra is keressük a választ, hogy a vizsgált paraméterek közül melyiknek lehet nagyobb jelentősége a vesebetegek érlelmeszesedésének kialakulásában, így melyek követése lehet diagnosztikus értékű a jövőben.
- Megvizsgáltuk, hogy vesebetegekben és primer dyslipidaemiában szenvedőkben a HDL-C csökkenése különbözőképpen hat-e a PON1 enzimfehérje mennyiségére, és eltérő mértékben befolyásolja-e az enzim arilészteráz aktivitását és/vagy antioxidáns kapacitását, melyet a paraoxonáz aktivitás jellemez. Mivel az alacsony HDL-C rendelkező krónikus veseelégtelenségben szenvedő és vesetranszplantált betegek kardiovaszkuláris rizikója még az alacsony HDL-C-szintű, primer dyslipidaemiás betegeket is meghaladja, arra számítottunk, hogy az arilészteráz és paraoxonáz aktivitás, a fenotípusok megoszlása, vagy a lipidprofil különbözni fog az alacsony HDL-C-szintű krónikus veseelégtelenségben szenvedő (KVE), vesetranszplantált (TX), és primer dyslipidaemiás (DL) betegek között.

Betegek és módszerek

Betegek

Az első vizsgálatba 117 krónikus veseelégtelenségben szenvedő és 146 vesetranszplantált beteget, valamint 1185 kontroll egyént, a másodikba 116 krónikus veseelégtelenségben szenvedő, 52 vesetranszplantált és 60 primer dyslipidaemiás beteget (alacsony HDL-C (férfi: <1 mmol/l, nő: <1,3 mmol/l) és normál HDL-C (férfi: >1 mmol/l, nő: >1,3 mmol/l) alcsoportokba osztva), a harmadikba 74 krónikus veseelégtelenségben szenvedő, 171 vesetranszplantált beteget, valamint 110 kontroll egyént vontunk be.

A veseelégtelenségben szenvedő betegek hetente háromszor négyórás hemodialízis-kezelésben, a vesetranszplantáltak kombinált immunszuppresszív terápiában részesültek (ciklosporin vagy takrolimus, azatioprin vagy mikofenolát mofetil, valamint metilprednizolon) cadaver vesetranszplantációt követően.

Első vizsgálatunkban a beválasztás feltétele volt a 21-70 év közötti életkor, a fontosabb gyulladásoz markerek élettani szintje és a normál Lp(a). Mindegyikben kizárási kritériumként szerepelt a diabetes mellitus és az emelkedett éhomi glükóz, a májbetegség és az alkohol- vagy drogfüggőség, az epekövesség, a közelmúltban zajlott miokardiális infarktus, az endokrin betegségek, a terhesség és a szoptatás, a HIV-pozitivitás, a súlyos mentális retardáció, a dohányzás, és kizárásra kerültek a daganatellenes kemoterápiában részesülő betegek, valamint első vizsgálatunkból a 4,5 mmol/l-nél magasabb TG-értékű és az antikoaguláns kezelésben részesülő betegek is.

Vérvétel

12 órás éhezést követően 10 ml vénás vért vettünk reggel 7:30 és 8:00 között, dializált betegekben a dialízis napján. A mintákból a Kenézy Kórház Központi Laboratóriumában és a Debreceni Egyetem Laboratóriumi Medicina Intézetében határozták meg a lipideket, máj- és vesefunkciós, valamint a gyulladásoz

paramétereiket, az I. Belklinika Kutató Laboratóriumában mértem a PON1 aktivitását, a Megelőző Orvostani Intézetben az enzimfehérje mennyiségét.

Lipidparaméterek

A szérum összkoleszterint és TG-et enzimátikus, kolorimetriás, a HDL-C-t homogén, enzimátikus módszerrel (HDL plus 3rd generation, Modular P-800 analízátor, Roche/Hitachi), az LDL-C arányát az első és második vizsgálatban Friedewald-egyenlettel, míg a harmadikban direkt enzimátikus módszerrel, az apolipoproteineket immun-turbidimetriás módszerrel határoztuk meg (Tina-Quant ApoA és ApoB Version 2, Roche).

Paraoxonáz- és arilészteráz-aktivitás

A PON1 enzimfehérje paraoxonáz- (PON-)aktivitásának meghatározásához a paraoxon 4-nitrofenollá alakulását mértem Hewlett-Packard 8453 UV-visible spektrofotométerrel. Egységnyi (1 U) PON-aktivitásnak felel meg, ha percenként 1 μ mol 4-nitrofenol keletkezik.

A PON1 enzimfehérje arilészteráz- (Aryl-)aktivitásának meghatározásához a fenilacetát lebontását mértem. Egységnyi (1 U) arilészteráz aktivitásnak felel meg, ha a fent leírt körülmények között percenként 1 μ mol fenilacetát bomlik le.

Fenotípus- és genotípus-megoszlás

A PON1 fenotípus-megoszlását kettős szubsztrát-módszerrel végeztem. Az enzimet kódoló gén PON1-192QR polimorfizmusa alapján két alloenzim képződhet: A (kis aktivitású) és B (nagy aktivitású). Az enzim 1 mmol/l NaCl jelenlétében mért (só-stimulált) paraoxonáz és arilészteráz aktivitásának aránya alapján AA (alacsony), AB (közepes) és BB (magas) enzimaktivitású egyéneket különböztettem meg.

A PON1-55 és a PON1-192 polimorfizmusokat fluoreszcens rezonancia-energiatranszfert (FRET) és olvadáspont-analízist kombináló PCR módszerrel határoztuk meg (Light Cycler real-time technológia). A PON1 gén PON1-55 és PON1-192 polimorfizmusait körülvevő régióit 151- és 138-bp méretű

amplikonokat eredményező amplifikációját végeztük (Népegészségügyi Iskola, TIB Molbiol Co. és Roche).

Tiobarbitursavval reagáló anyagok, oxidált LDL

A TBARS mennyiségét spektrofotometriás módszerrel határoztuk meg (Hewlett Packard 8453 spektrofotométer). Az oxLDL-t szendvics-ELISA (enzimhez kötött immunoszorbens) módszerrel mértük (WAK-Chemie Medical GmbH).

Homocisztein és cisztatin C

A homociszteint és a cisztatin C-t a Debreceni Egyetem Laboratóriumi Medicina Intézetében, valamint a Kenézy Kórház Laboratóriumában határozták meg (fluoreszcens polarizációs módszer (FPIA, Abbott), valamint immun-turbidimetriás módszer (PETIA, Bühlmann)).

Statisztikai módszerek

A vizsgálat első részében a PON1-55 és a PON1-192 allélgyakoriságának, a genotípusok és fenotípusok frekvenciájának kiszámítása után χ^2 -próbbával ellenőriztük a Hardy-Weinberg modell érvényességét. A második és harmadik vizsgálatban a Kolmogoroff-Smirnoff- és a Levene-próbbával megvizsgáltuk, hogy a paraméteres próbák alkalmazhatóak-e. Mivel a legtöbb csoportban a paraméterek nem mutattak normális eloszlást, a második vizsgálatban nem-paraméteres Kruskal-Wallis-próbbát használtunk annak vizsgálatára, hogy befolyásolja-e a paramétereket a veseelégtelenség és a vesetranszplantáció, mediánt és kvartiliseket adatscsoportok jellemzésére, és χ^2 -próbbát a nem, dohányzás és fenotípus összehasonlítására. A harmadik vizsgálatban a csoportok és mennyiségi változók összehasonlításához kétmintás t-próbbát és Spearman-féle regresszió-analízist alkalmaztunk. A lipidparaméterek ferde eloszlása esetén logaritmikus transzformációt használtunk. Több változós regressziószámítással határoztuk a PON1 aktivitás fő befolyásoló tényezőit.

Eredmények

A humán paraoxonáz-1 gén fenotípusa és genotípusa az átlagpopulációban és krónikus veseelégtelenségben

Szignifikánsan magasabb magasabb LDL-C-t, HDL-C-t, ApoA1-et és ApoB-t találtunk a vesetranszplantáltakban a KVE-hez viszonyítva ($p < 0,005$).

Az egyes allélek frekvenciája megfelelt a korábbi vizsgálataink eredményeinek és az irodalomban találtaknak mind a fenotípus, mind a genotípus tekintetében, és követte a Hardy-Weinberg-törvényt. A megoszlásokban nem volt szignifikáns különbség a vizsgált betegcsoportok között.

A fenotípusok és genotípusok közötti különbség a vártnál jelentősebbnek bizonyult. Az eltérés 29,6% (413/1396) volt a teljes vizsgált populációban, 30,9% (350/1133) a kontrollcsoportban, 28,2% (33/117) KVE-ben, 20,6% (30/146) TX-ban. A betegcsoportokban a legnagyobb különbségek az AB- és BB-fenotípusoknál voltak észlelhetőek (20,5% KVE és 17,1% TX betegekben), míg a kontrollcsoportban a legnagyobb eltérés az AA- (18,1%) és az AB-fenotípusoknál (12,8%) volt. A teljes vizsgált populációban a genotípusoknál a különbségek a következők voltak: 5,4% Gln192-nél (PON-192-QQ), 17,1% Gln192Arg-nél (PON-192-QR) és 7,1% Arg192-nél (PON-192-RR).

A PON- és a só-stimulát PON-aktivitás nem különbözött szignifikánsan KVE és TX betegekben a kontrollcsoporthoz viszonyítva. Az arilészteráz-aktivitás szignifikánsan alacsonyabb volt KVE-ben a kontrollcsoporthoz képest ($p < 0,001$).

Az alacsony HDL és a humán paraoxonáz-1 veseelégtelenségben és primer dyslipidaemiában

Az arilészteráz-aktivitás, mely a PON1-enzimfehérje mennyiségével arányos, szignifikánsan függött a veseelégtelenség és a vesetranszplantáció jelenlététől a normál ($p < 0,05$) és az alacsony HDL-C csoportban egyaránt ($p < 0,005$). Az arilészteráz-aktivitás alacsonyabb volt KVE-ben, mint dyslipidaemiában, a transzplantált betegeké a kettő között volt. Az arilészteráz/HDL-C arány

(Aryl/HDL-C) szintén szignifikánsan függött a veseelégtelenség és a vesetranszplantáció jelenlététől a normál ($p<0,005$) és az alacsony HDL-C-szintű csoportban ($p<0,05$). Az Aryl/HDL-C szignifikánsan magasabb volt az alacsony HDL-C-szintű betegekben mindhárom csoportban a normál HDL-C-hez viszonyítva ($p<0,05$).

Az arilészteráz-aktivitással ellentétben a paraoxonáz-aktivitás (PON) és a PON/HDL-C arány nem függött szignifikánsan a veseelégtelenség és a vesetranszplantáció jelenlététől (sem normál, sem alacsony HDL-C esetén). Nem volt szignifikáns különbség az alacsony és normál HDL-C csoportok paraoxonáz-aktivitásában, viszont az alacsony HDL-C KVE betegekben szignifikánsan magasabb KVE paraoxonáz/HDL-C arányt észleltünk, mint normál HDL-C KVE esetén ($p<0,05$). Nem volt szignifikáns különbség a paraoxonáz-aktivításban az alacsony és a normál HDL-C csoportok között DL és TX esetén sem.

A fenotípusok megoszlása nem különbözött szignifikáns mértékben a betegcsoportok között.

Normál HDL-C betegekben az LDL-C és az összkoleszterin szignifikánsan függött a kórelőzményben részt vevő veseelégtelenség és vesetranszplantáció jelenlététől ($p<0,005$), míg alacsony HDL-C esetében a különbség nem volt szignifikáns. A triglicerid szignifikánsan függött a veseelégtelenség és a vesetranszplantáció jelenlététől mind normál ($p<0,05$), mind alacsony HDL-C ($p<0,005$) esetén, alacsonyabb TG-értékekkel KVE-ben. Alacsony HDL-C esetén tendenciájában kedvezőtlenebb TG-et észleltünk mindhárom betegcsoportban. Szignifikáns különbség volt az ApoB, és az ApoA1 esetén is, mindkettő esetén a legalacsonyabb értéket KVE-ben észleltük ($p<0,05$). Az alacsony HDL-C szintű KVE, TX és DL csoportok ApoA1-szintje alacsonyabb volt az azonos betegségben szenvedő normál HDL-C csoportnál.

A cisztatin C, a homocisztein és a humán paraoxonáz-1 veseelégtelenségben

Negatív korrelációt találtunk a szérumban a cisztatin C szintje és a paraoxonáz aktivitás között mind a krónikus veseelégtelenségben szenvedő hemodializált, mind a vesetranszplantált betegeknél (KVE: $r=-0,42$, $p<0,05$; TX: $r=-0,34$, $p<0,05$). Negatív korreláció volt a homocisztein és a paraoxonáz aktivitás között mindkét betegcsoportban (KVE: $r=-0,48$, $p<0,05$; TX: $r=-0,37$, $p<0,05$). A cisztatin C pozitív korrelációt mutatott a homociszteinnel mindkét betegcsoport esetén (KVE: $r=0,53$, $p<0,05$; TX: $r=0,32$, $p<0,05$).

A veseelégtelenség súlyosságát tükröző cisztatin C szignifikánsan emelkedett művesekezelt és veseátültetett betegekben a kontrollcsoportéhoz viszonyítva. A PON aktivitás szignifikánsan alacsonyabb volt dializáltakban a kontrollokhoz képest, kisebb mértékben a vesetranszplantáltakban is. A homocisztein mindkét betegcsoportban emelkedett volt. A dializált betegek homociszteinszintje meghaladta mind a kontrollok, mind a transzplantáltak szérumszintjét, míg a transzplantáltakban észlelt homocisztein is szignifikánsan magasabb volt a kontrolloknál.

A szérumban az összkoleszterin, TG, LDL-C, ApoB, kreatinin és húgysav szignifikánsan magasabb, a HDL-C és az ApoA1 szignifikánsan alacsonyabb volt veseelégtelenségben a kontrollokhoz képest, a transzplantáltak értékei a másik két csoport között helyezkedtek el. Az oxidatív folyamatokat jellemző TBARS és oxLDL szignifikánsan magasabb volt a veseelégtelenségben szenvedő és a vesetranszplantált betegekben a kontrollokhoz képest.

Megbeszélés

A humán paraoxonáz-1 gén fenotípusa és genotípusa az átlagpopulációban és krónikus veseelégtelenségben

Egészségesekben a PON1-192 allélfrekvenciáját a következőképp találták: QQ: 51,7%, QR: 40,6%, RR: 7,7%, míg a PON1-55-ét: LL: 49,3%, LM: 38,6%, MM: 12,1%.

- Vizsgálatunk során az általuk leírthoz hasonló genotípus-megoszlást találtunk a hazai kontrollcsoportban.

A PON1 polimorfizmusok szerepe az ateroszklerotikus folyamatokban ellentmondásos. Az enzim fenotípusa, PON aktivitása és koncentrációja jobb prediktora az érbetegségeknek, mint a PON1-192 vagy a PON1-55 genotípus.

- Korábban 7,2%-os eltérést mutattak ki egészséges egyének genotípusa és fenotípusa között, a jelen vizsgálatunkban mindhárom csoportban észlelt nagyfokú genotípus és fenotípus közötti különbség váratlan mértékű.

Valószínűleg a környezeti faktorok (táplálkozási, földrajzi és farmakológiai tényezők) PON-aktivitásra gyakorolt hatása olyan jelentős, hogy a fenotípus-meghatározás nem tükrözi a PON1-192 alléllátást.

A hemodialízis csökkent antioxidáns védelemmel és reaktív oxidatív gyökök képződésével jár. A PON1 gátolta az LDL oxidatív modifikációját a lipidperoxidok hidrolízise révén, de paraoxonáz- és arilészteráz-aktivitása szignifikánsan csökkent KVE-ben. Viszonylag kevés kutatás irányult vesebetegek és transzplantáltak PON1-státusza felé.

- Nem találtunk különbséget a PON/HDL- és az Aryl/HDL-arányokban a dialízisprogramban részt vevő betegek és a kontrollcsoport között, sem a PON1 fenotípus-megoszlásban.

Korábbi vizsgálatunkban nem csak a PON-aktivitás, hanem a PON1/HDL-arány is szignifikánsan alacsonyabbnak bizonyult KVE-ben, míg a fenotípus-megoszlás nem különbözött az egészségesekétől. Egyesek hasonló, mások szignifikánsan alacsonyabb PON-, só-stimulált PON- és arilészteráz-aktivitást, valamint a B-allél

gyakoribb előfordulását észlelték hemodializáltakban. Legtöbbször a PON1 aktivitását mérték fenotípus- vagy genotípus-meghatározás nélkül.

- Jelenlegi vizsgálatunkban nem találtunk szignifikáns különbséget a PON- és só-stimulált PON-aktivitás tekintetében egyik betegcsoportnál sem a kontrollhoz képest, míg az arilészteráz-aktivitás szignifikánsan alacsonyabb volt KVE-ben a kontrollhoz viszonyítva (-22%, $p < 0,001$).

A vizsgálatunkban használt, referenciapopulációnak megfelelő kontrollesoport életkori és nemi megoszlás szerint jellemezte a felnőtt átlagpopulációt. Korábbi vizsgálatok szoros korrelációt találtak az arilészteráz-aktivitás és a plazma enzimkoncentrációja között. KVE-ben a PON1 szintézise csökkenhet a regulációs mechanizmus változása miatt.

- Jelenlegi vizsgálatunkban nem volt szignifikáns különbség a PON-, só-stimulált PON- és arilészteráz-aktivitásban a transzplantáltak és a kontrollcsoport között.

Ez alapján felmerülhet, hogy a vesetranszplantációt követően fokozott kardiovaszkuláris mortalitásért a PON1-státusztól független tényezők, mint a folyamatos immunszuppresszív kezelés, vagy a poszttranszplantációs dyslipidaemia szintén felelősek lehetnek. Korábbi vizsgálatokban a PON1 fenotípus fő meghatározóinak a PON1-192, PON1-107 és PON1-55 genotípus, kisebb mértékben az alkoholfogyasztás, a dohányzás és a HDL-szint bizonyultak. Jelenlegi vizsgálatunkban a referencia-populációban számos PON1-fenotípust módosító faktor (dyslipidaemia, alkoholfogyasztás, dohányzás) szintén jelen lehetett. A krónikus veseelégtelenségben szenvedő és vesetranszplantált csoportokban az alapbetegség következtében létrejövő metabolikus változások valószínűleg azonos genetikai háttér esetén is eltérő fenotípus-megoszlást eredményezhetnek. A jövőben végzett klinikai vizsgálatok során genotípus- és fenotípus-meghatározás is szükséges.

Az alacsony HDL és a humán paraoxonáz-1 veseelégtelenségben és primer dyslipidaemiában

Mivel a PON1 aktivitása a vesebetegség súlyosbodásával csökken, felmerült, hogy az alacsony HDL és ApoA1 okozzák a PON1 mennyiségének és paraoxonáz-aktivitásának csökkenését krónikus veseelégtelenségben. A csökkent antioxidáns aktivitás és a következményes LDL-oxidáció hozzájárulhat KVE-ben a korai ateroszklerózishoz.

- Vizsgálatunkban KVE-ben a kontrollokhoz képest észlelt alacsony arilészteráz aktivitás arra utal, hogy vesebetegségben valóban csökken a PON1 enzimefehérje mennyisége, de ez a csökkenés nem függ szignifikáns mértékben a HDL-C-től, így a csökkent antioxidáns védelmet nem tulajdoníthatjuk az alacsony HDL-szinttel járó dyslipidaemiának.
- Magasabb arilészteráz-aktivitást észleltünk vesetranszplantáltakban KVE-hez viszonyítva, amely azt mutatja, hogy a transzplantáció kedvező hatással lehet az enzimszintézisre.

A vesebetegekben csökkent enzimaktivitás lehetséges magyarázata lehet az urémiás toxinok retenciója, a glikációs végtermékek, szabadgyökök és módosított peptidek jelenléte, valamint a megnövekedett fehérje-homociszteiniláció. Mivel az oxidált lipidek és a homocisztein-tiolakton inaktíválhatja a PON1-et, az oxidatív folyamatok hatására a szérum paraoxonáz-aktivitása és a HDL antioxidáns aktivitása vesebetegségben csökken.

- Jelen tanulmányunkban az enzim paraoxonáz aktivitása nem függött szignifikánsan a veseelégtelenség vagy transzplantáció meglététől dyslipidaemiás kontrollhoz viszonyítva, ami arra utal, hogy a csökkent mennyiségű enzimfehérje ellenére az antioxidáns válasz nem volt jelentősen alacsonyabb a dyslipidaemiás betegekhez viszonyítva.
- Az alacsony HDL-C vesebetegekben a normál HDL-C KVE-hez képest észlelt csökkent paraoxonáz aktivitás HDL-C-re korrigálva már jelentősen

magasabbnak bizonyult, ami arra utalhat, hogy veseelégtelenségben a HDL emelése segítheti az antioxidáns védelmet.

- Az apolipoproteinek mennyiségi változása lipoprotein-részecskék strukturális különbségeire utalhat a veseelégtelen, a veseátültetett, illetve a dyslipidaemiás csoportok között, melynek hátterében a megváltozott fehérjeszintézis és -metabolizmus állhat.

A HDL-szubfrakciók megváltozott aránya befolyásolhatja a PON1-aktivitást (koncentrációja HDL3-ban>HDL2-ben). Az alternatív antioxidáns útvonalak (pl. LCAT) alacsony HDL esetén fokozott mértékben hozzájárulhatnak a prooxidánsok inaktivációjához.

- Egy korábbi vizsgálatban a B allél előfordulását gyakoribbnak találták veseelégtelenségben, míg jelen vizsgálatunkban több más közléshez hasonlóan nem volt szignifikáns különbség a betegcsoportok között a fenotípus-megoszlás tekintetében.

Új eredmény az alacsony HDL-C-szintű vesebetegekben dyslipidaemiásokhoz képest csökkent arilészteráz-aktivitás, mely HDL-C-re korrigálva is szignifikáns maradt. Nem találtunk szignifikáns különbséget a PON1 paraoxonáz aktivitásában a krónikus veseelégtelenségben szenvedő és a primer dyslipidaemiás betegcsoportok között, így ezzel nem magyarázhatjuk a dializált betegekben észlelhető, a primer dyslipidaemiához képest is fokozott kardiovaszkuláris morbiditást. A magasabb CRP, a kóros lipidprofil, a kedvezőtlen HDL- és LDL-szubpopuláció-megoszlás, valamint a megnövekedett oxidatív stressz mind hozzájárul a vesebetegek magas kardiovaszkuláris rizikójához.

A PON1 csökkent tiolaktonáz-aktivitása miatt dializált betegekben fokozódik a fehérjék homociszteinilációja, amely felgyorsíthatja az érlemeszesedést a közel normál homociszteinszintű dyslipidaemiás betegekhez képest.

A PON1 aktivitás emelése lassíthatja a vesebetegség progresszióját és a szövődmények kialakulását. Fontosak azok a terápiás beavatkozások, melyek visszaállíthatják a vesebetegekben károsodott HDL élettani szintjét, funkcióját és szubpopuláció-megoszlását, növelve a PON1 aktivitását és az LDL méretét,

csökkentve a trigliceridben gazdag lipoprotein-maradékok mennyiségét. A megfelelő táplálkozás, a dohányzás elhagyása, a sztatinok, fibrátok, ezetimib és nikotinsav kedvező hatásúak lehetnek. Vesebetegekben az alapbetegségből adódó különbségek, a lipidprofil változásai, potenciális interakciók és a megváltozott lipoprotein-metabolizmus a primer dyslipidaemiához képest különböző terápiás megközelítést indokol. Kiemelkedően fontos lehet olyan, nagyon nagy rizikójú alcsoportok definiálása, ahol a várható terápiás haszon előre láthatólag meghaladja a mellékhatások kockázatát.

A cisztatin C, a homocisztein és a humán paraoxonáz-1 veseelégtelenségben

Krónikus veseelégtelenségben, valamint vesetranszplantációt követően a cisztatin C összefügg a kardiovaszkuláris morbiditással és a vesefunkció beszűkülésének mértékével, amely a homocisztein csökkent renális eliminációjához vezet.

- Jelen vizsgálatunkban is a korábbi eredményeknek megfelelő, emelkedett cisztatin C-t és homociszteint találtunk veseelégtelenségben, míg transzplantáltakban kisebb mértékű emelkedés volt észlelhető a kontrollhoz képest.
- Más vizsgálatokhoz hasonlóan negatív korrelációt találtunk a cisztatin C és a homocisztein szérumszintje között.

A homocisztein metabolizmusa zavart szenved a lebontóenzimeket károsító oxidatív stressz és homociszteiniláció, valamint a kofaktor B12-, B6-vitamin és folsav hiánya miatt, melyek csökkent szintjét mutatták ki krónikus veseelégtelenségben. Egyes vizsgálatok fordított összefüggést találtak a homocisztein és a PON1 arilészteráz aktivitása közt, mások nem találtak szignifikáns korrelációt. Felvetették, hogy a homocisztein PON1-aktivításra gyakorolt negatív hatása csak kórosan emelkedett homociszteinszint esetén érvényesülhet.

- Jelenlegi vizsgálatunkban negatív korrelációt találtunk a PON1 paraoxonáz aktivitása és a homocisztein koncentrációja között, mely alátámasztja a korábbi megfigyeléseket.

Egy korábbi vizsgálatban a PON1 homocisztein-tiolaktonáz aktivitásának meghatározója volt az összhomocisztein, az életkor és az összkoleszterin, de a HDL nem. Korrelációt találtak a PON1 homocisztein-tiolaktont és paraoxont hidrolizáló aktivitása között. A PON1 homociszteinilációja következtében csökkent enzimaktivitása a HDL-en található fehérjék (maga a PON1 is) fokozott érzékenységéhez vezet az oxidatív folyamatokkal és a további homociszteinilációval szemben, ez csökkenti a PON1 laktonáz aktivitását, így az endogén laktonok (pl. homocisztein-tiolakton) felhalmozódásához vezet, mely a KVE-ben megnövekedett mennyiségű LDL-lel homocisztein-tiolakton-LDL-aggregátumokat képez, ezek az ateroszklerotikus plakkokban elősegítik a habos sejtek képződését.

- Eredményeink alátámasztják kezdeti hipotézisünket a PON1 aktivitásának és a cisztatin C szintjének összefüggéséről.

A korrelációt részben a veseelégtelenségben észlelhető fokozott oxidatív stressz és homociszteiniláció magyarázhatja, mely a PON1 csökkent aktivitásához, valamint a HDL részecskék oxidatív modifikációjához vezet. A romló vesefunkció miatt növekvő cisztatin-C csak részben tudja gátolni a felgyorsult ateroszklerotikus folyamatokat.

- A dializált betegekben észlelhető emelkedett TBARS és oxLDL fokozott oxidatív károsodásra utal, amelyet a prooxidáns homocisztein nagy koncentrációja, az antioxidáns PON1 csökkent aktivitása és a romló vesefunkció miatt emelkedett cisztatin C jellemez. A vesetranszplantáció csak részben képes helyreállítani az eltéréseket. Eredményeink összhangban vannak az irodalomban leírt korábbi megfigyelésekkel.

Hemodializált és vesetranszplantált betegekben a PON1 paraoxonáz aktivitása és a szérum cisztatin C szintje közötti összefüggés új eredmény. Új aspektust jelent

azon megfigyelésünk, hogy vesebetegekben a cisztatin C nem csak a homociszteinnek, hanem az antioxidáns státusznak is jó prediktora lehet.

- Ezért a jövőben a szérum cisztatin C meghatározás javasolható hemodializált és vesetranszplantált betegeknél.

Összefoglalás

A krónikus veseelégtelenség (KVE) az egyik legjelentősebb kardiovaszkuláris (KV) rizikófaktor. Munkacsoportunk korábban KVE-ben az antioxidáns és antiaterogén humán paraoxonáz-1 enzim (PON1) csökkent aktivitását találta. Azt vizsgáltuk, hogy KVE-ben a PON1 aktivitásának változásában milyen mértékben játszanak szerepet a genotípus és a fenotípus az átlagpopulációhoz képest. A cisztatin C kiválasztása KVE-ben csökken, így markere a vesefunkció beszűkülésének, ezért pozitív korrelációt mutat a kardiovaszkuláris események előfordulásával, ugyanakkor a cisztatin C ateroszklerotikus plakkot stabilizáló, védő hatása. A KVE-ben gyakori, proaterogén hiperhomociszteinémia károsítja az endothelt. Megvizsgáltuk, milyen kapcsolat van a PON1, cisztatin C és homocisztein között. A KVE-ben gyakori alacsony HDL-C miatt a HDL PON1-aktivitásra gyakorolt hatásának megítélésére egészséges kontroll helyett alacsony HDL-C-nel rendelkező, primer dyslipidaemiásokhoz (DL) hasonlítottuk a vesebetegek PON1-aktivitását.

A vártnál nagyobb különbséget találtunk a PON1 genotípusa és fenotípusa között. A genotípus- és fenotípus-megoszlásban nem volt szignifikáns eltérés. Következtetésünk szerint ezért a PON1-státusz meghatározásához a fenotípus és genotípus meghatározása egyaránt szükséges. A KVE-ben létrejövő anyagcsere-változások eredményként a PON1 a cisztatin C-vel és a homociszteinnel negatív, míg a cisztatin C és a homocisztein pozitív korrelációt mutatott. A cisztatin C tehát a homocisztein mellett a vesebetegek és vesetranszplantáltak antioxidáns státuszának is prediktora lehet. DL-ban a PON1 paraoxonáz-aktivitása hasonlóan csökkent, míg a PON1 arilészteráz-aktivitásának csökkenése KVE-ben kifejezettebb volt. Ez arra utal, hogy KVE-ben csökken a májsejtekben a PON1 enzimfehérje szintézise és az ezzel korreláló arilészteráz-aktivitás, de ez nem magyarázható a csökkent HDL-C-nel. Az alacsony HDL-C-nel rendelkező KVE betegek fokozott kardiovaszkuláris mortalitása nem magyarázható a PON-aktivitás, vagy a fenotípus-megoszlás változásával.

Iktatószám: DEENKÉTK/45/2012.
Tételszám:
Tárgy: Ph.D. publikációs lista

Jelölt: Varga Éva

Neptun kód: JG73XT

Doktori Iskola: Egészségtudományok Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Varga, É.**, Seres, I., Harangi, M., Kárpáti, I., Koncsos, P., Sztanek, F., Paragh, G.: Low HDL-cholesterol is not responsible for decreased paraoxonase activity in chronic renal failure. *Kidney Blood Press. Res.* "accepted by publisher", 2011.
IF:1.5 (2010)
2. Paragh, G., Seres, I., Harangi, M., Pocsai, Z., Asztalos, L., Lőcsey, L., Széles, G., Kardos, L., **Varga, É.**, Kárpáti, I., Ádány, R.: Discordance in human paraoxonase-1 gene between phenotypes and genotypes in chronic kidney disease. *Nephron Clin. Pract.* 113 (1), C46-C53, 2009.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1159/000228075>
IF:1.606
3. **Varga, É.**, Seres, I., Harangi, M., Sztanek, F., Asztalos, L., Lőcsey, L., Borbás, B., Szegedi, J., Kárpáti, I., Paragh, G.: Serum cystatin C is a determinant of paraoxonase activity in hemodialyzed and renal transplanted patients. *Dis. Markers.* 26 (3), 141-148, 2009.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3233/DMA-2009-0624>
IF:2.026



További Közlemények

4. Oláh, A., Asztalos, L., Ivády, G., **Varga, É.**, Kovács, M.Á., Kappelmayer, J., Varga, J.: Monitoring of mycophenolic acid and kidney function during combined immunosuppressive therapy.
Clin. Chem. Lab. Med. 49 (11), 1849-1853, 2011.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1515/CCLM.2011.678>
IF:2.069 (2010)

5. Káplár, M., Paragh, G., Erdei, A., Csongrádi, É., **Varga, É.**, Garai, I., Szabados, L., Galuska, L., Varga, J.: Changes in cerebral blood flow detected by SPECT in type 1 and type 2 diabetic patients.
J. Nucl. Med. 50 (12), 1993-1998, 2009.
DOI: <http://dx.doi.org/10.2967/jnumed.109.066068>
IF:6.424

6. Paragh G., **Varga É.**, Márk L.: Az LDL-koleszterin jelentősége a kardiovaszkuláris események gyakoriságának csökkentésében.
Kardiovaszk. Prev. Rehab. 1 (2), 26-35, 2009.

Összesített impakt faktor: 13.625

Összesített impakt faktor: (értekezés alapján szolgáló közlemények esetén): 5.132

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

Debrecen, 2012.02.13

