

EGYETEMI DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

A HDL minőségét befolyásoló endogén és exogén tényezők vizsgálata

Dr. Zsíros Noémi

Témavezető: Dr. Harangi Mariann



DEBRECENI EGYETEM

EGÉSZSÉGTUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA

Debrecen, 2017

Tartalomjegyzék

Rövidítésjegyzék.....	4
1. Bevezetés.....	7
2. Irodalmi áttekintés.....	10
2.1. A HDL szerkezete.....	10
2.2. A HDL funkciója.....	14
2.2.1. A HDL antioxidáns funkciója.....	15
2.2.2. Reverz koleszterin transzport.....	20
2.2.3. A HDL egyéb (anti-atherogén) funkciói.....	24
2.3. A HDL összetételét és működését befolyásoló tényezők.....	25
2.3.1. A HDL összetételét és működését befolyásoló genetikai tényezők.....	25
2.3.2. A HDL összetételét és működését befolyásoló betegségek.....	27
2.3.3. A HDL összetételét és működését befolyásoló gyógyszeres kezelés.....	28
2.3.3.1. Statin intolerancia, ezetimib monoterápia.....	31
2.4. A HDL funkcióval kapcsolatos vizsgálatok klinikai jelentősége.....	34
3. Célkitűzések.....	36
4. Betegek és módszerek.....	37
4.1. Betegek kiválasztása.....	37
4.1.1. Statin intoleráns betegek kiválasztása.....	37
4.1.2. Túlsúlyos és elhízott, lipidcsökkentővel nem kezelt hyperlipidaemiás betegek kiválasztása.....	38
4.2. Vértétel és laboratóriumi paraméterek mérése, statisztikai elemzés.....	39
4.2.1. Statin intoleráns betegek esetében a vérvétel és a laboratóriumi paraméterek mérése.....	39
4.2.2. <i>NPC1L1</i> genotípus meghatározás.....	40
4.2.3. Statin intoleráns betegek eredményeinek statisztikai elemzése.....	40

4.2.4. Túlsúlyos és elhízott, lipidcsökkentővel nem kezelt hyperlipidaemiás betegek esetében a vérvétel és a laboratóriumi paraméterek mérése	41
4.2.5. Paraoxonáz-1 aktivitás mérése.....	41
4.2.6. Enzim-kapcsolt immunszorbens vizsgálatok.....	42
4.2.7. Túlsúlyos és elhízott, lipidcsökkentővel nem kezelt betegek eredményeinek statisztikai elemzése.....	43
5. Eredmények.....	44
5.1. A Niemann –Pick C1-Like1 c.-133A>G polimorfizmus hatása az ezetimib monoterápia hatékonyságára.....	44
5.2. A paraoxonáz-1 aktivitás, a mieloperoxidáz szint és egyéb vaszkuláris biomarkerek közötti kapcsolat kezeletlen hyperlipidaemiás betegekben.....	51
6. Megbeszélés.....	57
7. Összefoglalás.....	62
8. Summary.....	64
9. Irodalomjegyzék.....	66
10. Az értekezés alapjául szolgáló közlemények.....	93
11. Tárgyszavak, köszönetnyilvánítás.....	95
12. Függelék.....	98

Rövidítésjegyzék

ABCA1	ATP-kötő kazetta protein A1
ABCG1	ATP-kötő kazetta protein G1
ABCG5/G8	ATP-kötő kazetta protein G5/G8
ACAT2	acetyl-koenzimA-acetyltranszferáz 2
anti-TNF-alfa	anti-tumor-nekrózis-faktor-alfa
apo	apolipoprotein
ATP	adenozin trifoszfát
BMI	testtömeg index (body mass index)
bp	bázispár
CETP	koleszterin-észter transzfer protein
CK	kreatinin-kináz
CT	komputer tomográfia
DNS	deoxiribonukleinsav
EDTA	etiléndiamintetraecetsav
EKG	elektrokardiográfia
EL	endotheliális lipáz
eNOS	endotheliális nitrogén-monoxid szintetáz
FV	V-ös faktor
HbA1C	hemoglobin A1C
HDL	nagy sűrűségű lipoprotein (high density lipoprotein)
HDL-C	nagy sűrűségű lipoprotein-koleszterin (high density lipoprotein-cholesterol)
HL	hepatikus lipáz
hsCRP	magas-szenzitivitású C-reaktív protein
IDL	közepes sűrűségű lipoprotein (intermediate density lipoprotein)

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

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

1. Bevezetés

A nagy sűrűségű lipoprotein (high density lipoprotein, HDL) számos feladatot lát el, ezek közül elsősorban az antioxidáns hatása, illetve a perifériás sejtek koleszterin tartalmának máj felé továbbítása (reverz koleszterin transzport, RCT) révén kiemelkedő szerepet tölt be az érlemezéssel szembeni védekezésben. Egyre több epidemiológiai adat és klinikai vizsgálat támasztja alá, hogy a HDL lehet a következő célpont a fennmaradó kardiovaszkuláris kockázat csökkentésében a statinnal kezelt, magas kockázatú betegek esetében. Több mint három évtized óta a HDL-koleszterin (HDL-C) szint meghatározást alkalmazzák elsődlegesen a HDL vizsgálatára (Rosenson 2011). A Framingham Heart Study során igazolódott, hogy a HDL-C szint 0,26 mmol/L-es emelkedése szignifikánsan csökkenti a kardiovaszkuláris megbetegedések relatív kockázatát (Movva 2008), ennek ellenére az utóbbi években számos kutatás bizonyította, hogy a keringő HDL-C szint mellett a HDL minőségének vizsgálata még fontosabb (Cimmino 2015), mivel a HDL-C szint nem nyújt érdemi információt a HDL részecskék összetételéről és működéséről (Fogelman 2010). Ezt támasztja alá az is, hogy a fibrát, niacin vagy CETP-inhibitor kezeléssel járó HDL-C szint-emelkedés nem csökkentette olyan mértékben a kardiovaszkuláris kockázatot, mint ahogy azt az epidemiológiai vizsgálatok alapján várni lehetett volna (Ginsberg 2010, Barter 2007, Boden 2011, Schwartz 2012, von Eckardtstein 2010 a, Besler 2012, Voight 2012), illetve hogy az apoAI Milano mutációt hordozók esetében nagyon alacsony a HDL-C szint, mégis relatíve védettek a vaszkuláris betegségekkel szemben (Chyu 2011, Capelleveen 2013). Mindezek megerősítik azt a felismerést, hogy a kardiovaszkuláris betegségek kezelése során nem elsősorban a HDL-C szint emelése, hanem a keringő HDL funkciójának javítása a fontos (Cimmino 2015).

A HDL fizikokémiai és funkcionális heterogenitása miatt a kutatóknak jelentős kihívás a HDL-C szint meghatározásánál hatékonyabb, és a kardiovaszkuláris kockázatot pontosabban becslő laboratóriumi és klinikai módszer kifejlesztése (Rosenson 2011). A kutatások nagy száma ellenére még nem találtak erre megbízható, széles körben elfogadott és alkalmazott módszert.

A koleszterin homeosztázist elsősorban a máj koleszterin szintézise, a jejunum proximális részén zajló koleszterin felszívódás és az epe általi kiválasztás határozza meg (Cohen 2008). Az intesztinális koleszterin felszívódásban a Niemann-Pick C1-like 1 (NPC1L1) fehérje játszik kulcsszerepet, ami alapvetően meghatározza a felvett koleszterin mennyiségét. A koleszterin ezt követően egy apolipoprotein B (apoB)-től független úton, az adenzin-trifoszfát-(ATP)-kötő kazetta protein A1 (ABCA1) transzporter révén részt vesz a reverz koleszterin transzportban, ezáltal a HDL részecske érésében. Az ezetimib a NPC1L1 fehérje gátlásán keresztül átlagosan 15-20%-kal csökkenti az alacsony sűrűségű lipoprotein-koleszterin (low density lipoprotein-cholesterol, LDL-C) szintet (Pandor 2009), emellett fokozza a reverz koleszterin transzportot is (Davidson 2013). A koleszterin felszívódásában és a lipidcsökkentő kezelésre adott válaszban mutatott inter-individuális különbségek mögött részben a NPC1L1 fehérjét kódoló gén polimorfizmusai állnak. Mindeztáig a *NPC1L1* gén egy pontos nukleotid polimorfizmusok (single nucleotide polymorphism, SNP) ezetimib monoterápiára adott válasza kifejtett hatását még nem vizsgálták. A polimorfizmusok közül a nemzetközi irodalom áttekintése alapján került kiválasztásra a c.-133A>G. Feltételeztük, hogy az általunk választott polimorfizmus hatással lesz az ezetimib monoterápiára adott válasza.

A HDL működését nemcsak genetikai (endogén) tényezők befolyásolhatják, hanem a hozzá kapcsolódó, azzal funkcionális egységet alkotó enzimek/molekulák jelenléte és aktivitása is. Régóta ismert, hogy az antioxidáns hatású paraoxonáz-1 (PON1) a HDL-hez

kapcsolódik, de csak néhány éve igazolódott, hogy az érlelmeszesedésben szerepet játszó mieloperoxidáz (MPO) enzim szoros funkcionális egységet képez a PON1 fehérjével a HDL felszínén, ezáltal egy hármas egységet alkotnak, és kölcsönösen hatással vannak egymás működésére (Huang 2013). A PON1 aktivitás, az MPO szint és a HDL közötti erős kapcsolat alapján feltételeztük, hogy ezek együttes vizsgálata – (akár) kiegészítve más, az érlelmeszesedés folyamatában szerepet játszó tényezők meghatározásával - érzékeny markere lehetne az érlelmeszesedésnek.

2. Irodalmi áttekintés

2.1. A HDL szerkezete

A később HDL-ként ismertté váló lipid-gazdag alfa globulint először 1929-ben a párizsi Pasteur Intézetben izolálta lószérumból Michel Macheboeuf (Shah 2013).

A HDL egy kicsiny, denz, fehérjében gazdag lipoprotein, melynek átlagos mérete 8-10 nm, átlagos sűrűsége pedig 1,063-1,21 g/mL (Kontush 2015). Egy hidrofíl külső burokból, illetve egy belső hidrofób magból áll. A külső burkot 2-5 apolipoprotein AI (apoAI) molekula és kb. 100 foszfatidil-kolin molekula alkotja, mely csak véges mennyiségű szabad koleszterint képes szállítani. Ezzel ellentétben, a magban a triglicerid mellett nagyszámú koleszterin-észter található, mely révén a HDL szállító kapacitása jelentősen megnő (Huang 2011, Harangi 2005, Lüscher 2014).

A HDL részecskék komplex és heterogén makromolekulák, mind fehérjetartalmuk (proteómájuk), mind lipidösszetételük (lipidómájuk) változatos, ami méretbeli, denzitásbeli, struktúrabeli és funkcióbeli inhomogenitást eredményez, ezáltal szubfrakciókra oszthatóak, melyek folyamatosan egymásba alakulnak (Annema 2013, Vickers 2014). A lipidóma foszfolipidből (kb. 25%), szabad koleszterinből (kb. 4%), trigliceridből (kb. 3%) és koleszterin-észterekből (kb. 12%) áll (Shah 2013). A legnagyobb mennyiségben a strukturális szerepet betöltő foszfatidil-kolin van jelen (Wiesner 2009). A különböző lipidek mennyisége az egyes HDL szubfrakciókban nem egységes. A strukturális szerepet betöltő lipid komponensek, a koleszterin és a koleszterin-észterek mellett a HDL részecskében olyan lipid összetevők is megtalálhatóak, melyek a lipoprotein más fehérjékkal való interakcióját módosítják, antikoaguláns hatásúak, esetleg részt vesznek a jelátviteli folyamatokban vagy a gyulladáshoz való válasz szabályozásában (Kontush 2015)

A többi lipoprotein osztályhoz képest a HDL részecskék jóval nagyobb számú, körülbelül 200 fehérje-típust hordoznak (Lüscher 2014). A proteinek jelentős része a lipid transzporthoz vagy a lipoprotein egységéhez szükséges fehérje (apolipoproteinek). Ezek közül az apoAI (65%) és az apolipoprotein AII (apoAII) (15%) van jelen a legnagyobb arányban, de az apolipoprotein CI (apoCI), apolipoprotein CII (apoCII), apolipoprotein CIII (apoCIII) és az apolipoprotein E (apoE) is megtalálható a HDL részecskékben. A köpenyben elhelyezkedő apolipoproteinek a HDL metabolizmusára is hatással vannak (Jonas 2002). Számos HDL-hez kapcsolódó apolipoprotein képes egy szolubilis lipid-szegény állapotban is létezni, ezáltal különböző lipoprotein csoportok között mozogni (Shah 2013).

A felépítést és működést tekintve az apolipoprotein AI a HDL részecske legfőbb fehérjéje (Kontush 2015). A jelenleg apoAI-ként azonosított fehérjét korábban számos elnevezéssel illették, mint például „R-Thr” peptid, II-es vagy III-as fehérjerész (fraction II/IIIpeptide) (Shah 2013). A 243 aminosavból álló apolipoprotein alfa-hélicei kiemelkedő szerepet játszanak a lipidekkel való kapcsolatban. In vivo tanulmányok igazolták, hogy az apoAI-nek antioxidáns, anti-inflammatorikus és anti-atheroszklerotikus hatása is van (Nicholls 2005a, b, Paszty 1994). Az apoAI fő funkciói közé tartozik a HDL részecske szerkezetének stabilizálása, a lecitin koleszterin aciltranszferáz (LCAT) aktivációja, illetve a HDL anti-atherogén és anti-inflammatorikus képességének nagy része is az apoAI-hez köthető, úgymint a lipid hidroperoxidok redukciója, az ABCA1 által mediált koleszterin efflux, az ATP-kötő kazetta protein G1 (ABCG1) transzporterrel és a scavenger receptor class B type I (SR-BI)-el való interakció (Mei 2015, Garner 1998, Zerrad-Saadi 2009, Zheng 2004). Az apoAI központi szerepét hangsúlyozza az is, hogy számos új gyógyszert fejlesztenek, melyek az apoAI mennyiségét hivatottak növelni.

A reverz koleszterin transzportban és az antioxidáns hatásban kiemelkedő szerepet játszó apolipoproteineken kívül a HDL-en található fehérjék közül is sok aktívan hozzájárul a HDL

anti-inflammatorikus, antiatherogenikus és más pleiotróp hatásához. A HDL-hez kötött PON1 lényeges szerepet játszik a HDL antioxidáns hatásában. Továbbá a HDL-hez hozzákapcsolódó lipolitikus enzimek, mint például az LCAT, illetve lipid transzfer fehérjék (például a CETP) szintén hozzájárulnak a HDL kedvező tulajdonságaihoz. Néhány fehérje érintett a hemosztázisban (fibrinogen vagy a szerin proteáz inhibitor család egyes tagjai), a vérlemezke aktiváció szabályozásában, a szervezet védekezőképességében (a komplement rendszer néhány tagja és egyes akut fázis fehérjék: szérum amiloid A (SAA), apoJ, lipopoliszacharid kötő fehérje). Sőt egyesek a hem és vas metabolizmusban (hemoglobin, transzferrin, hemopexin) vagy a vitaminok szállításában vesznek részt. Ezen túlmenően az utóbbi időben vált ismertté a sejt túlélésre, proliferációra és migrációra irányuló szabályozó HDL-hatás (Shah 2013, Lüscher 2014). A fentiek alapján arra következtethetünk, hogy a HDL alapvető szerepet játszhat a szervezet védekezési mechanizmusában is (Hoofnagle 2009).

A HDL-t alkotó egyes fehérjéknek gyakran több izoformájuk is van, illetve könnyen áteshetnek poszttranszlációs módosulásokon. A változatos összetétel miatt, a HDL részecskék szerkezeti, kémiai és biológiai tulajdonságai kifejezett eltéréseket mutathatnak. Ez a fiziológiás sokszínűség még tovább fokozódik patológiás állapotokban a HDL-t alkotó komponensek további kvantitatív és kvalitatív molekuláris változásainak köszönhetően (a fiziológiai funkciók elvesztése vagy patológiás diszfunkció kialakulásával) (Kontush 2015, Lüscher 2014).

A HDL elválasztás „gold standard”-ja az analitikai ultracentrifugálás, ez alapján megkülönböztethetünk kevésbé denz (1,063–1,125 g/mL), relatíve lipid-gazdag HDL₂ és a denzebb (1,125–1,21 g/mL), fehérjében gazdagabb HDL₃ alosztályt (De Lalla 1954). Ezt követően a HDL és az érlelmeszesedés közötti szoros kapcsolat alapján kialakuló egyre nagyobb nemzetközi érdeklődés nyomán számos új elválasztási technika jelent meg. A különböző technikákkal elvégzett HDL szubfrakciók vizsgálatának nevezéktana nem

egységes, ezért Rosenson és munkatársai egy, a HDL fizikai tulajdonságain alapuló osztályozást állítottak össze, ami egységesítette számos módszer terminológiáját és 5 alosztályra osztotta a HDL-t: nagyon nagy, nagy, közepes, kicsi, nagyon kicsi. (Kontush 2015, 1. táblázat).

1. táblázat: A HDL szubfrakciók a különböző elválasztási technikák alapján (Rosenson 2011 nyomán)

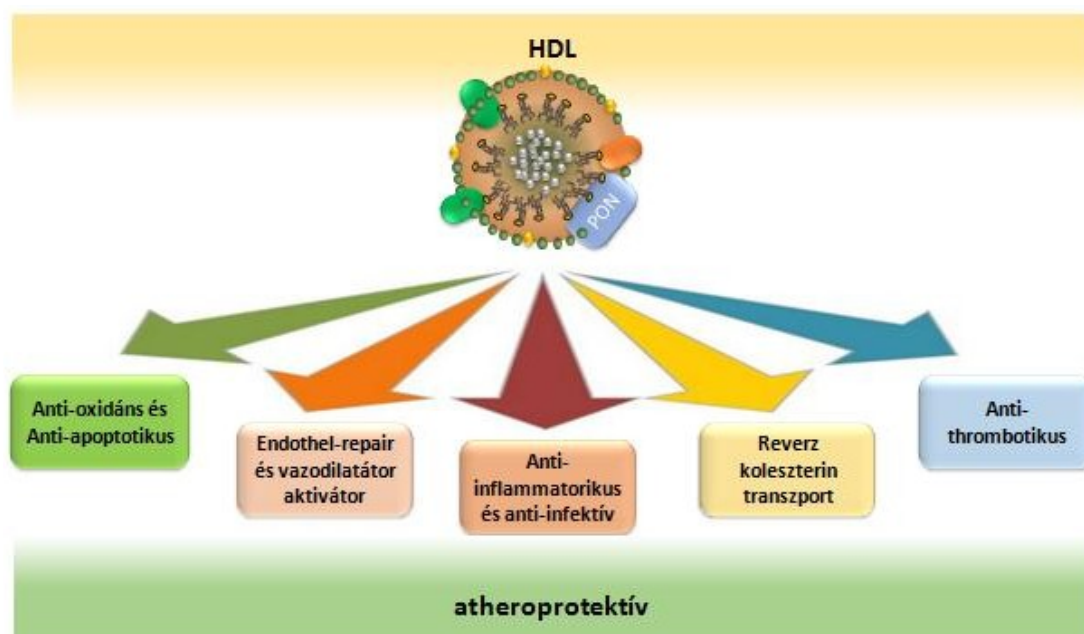
	Nagyon nagy HDL (very large)	Nagy HDL (large)	Közepes HDL (medium)	Kis HDL (small)	Nagyon kis HDL (very small)
Denzitás (g/ml)	1.063-1.087	1.088-1.110	1.110-1.129	1.129-1.154	1.154-1.21
Átmérő (nm)	12.9-9.7	9.7-8.8	8.8-8.2	8.2-7.8	7.8-7.2
Denzitás grádiens ultracentrifugálás	HDL2b	HDL2a	HDL3a	HDL3b	HDL3c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

A HDL szubfrakciók működésüket tekintve is heterogének. Számos kutatás igazolja, hogy a HDL anti-atherogén hatásáért döntően a kis, denz HDL3 tehető felelőssé (Camont 2013, de Souza 2010). A HDL szubfrakciók kardiovaszkuláris betegségekkel kapcsolatos prognosztikai szerepére vonatkozóan az egyes vizsgálatok nem mutatnak egységes eredményeket (Superko 2012, Lüscher 2014, Rosenson 2011, Rye 2012, Mackey 2012). Az viszont világosan látszik, hogy a HDL szubfrakciók vizsgálata csakúgy, mint a HDL összetételére és működésére irányuló vizsgálatok, jobbak a szívkoszorúér-betegség kockázatának előrejelzésében, mint a HDL-C szint mérése (Rosenson 2010, Asztalos 1993, Rothblat 1999).

2.2. A HDL funkciója

A HDL részecske számos feladatot lát el, melyek mindegyike intenzív kutatás tárgya (1. ábra). A klinikai érdeklődés először az érlelmeszesedésben betöltött szerepe miatt irányult a HDL felé, ugyanakkor a jelenlegi kutatások már nem korlátozódnak a vaszkuláris szövetekre, hanem egyre nagyobb számban a hasnyálmirigy, a vese és az idegrendszer szöveteiben betöltött szerepét is vizsgálják. A HDL segíti szervezetünk fertőzésekkel és a környezeti mérgekkel szembeni védekezését is. Szinte minden esetben úgy tűnik, hogy a HDL jótékony hatással van az egészségre, ami felveti annak a lehetőségét, hogy ezek a hatások egy ősi, a sejtet védő szerepből erednek (Karlsson 2015).

1. ábra: A HDL atheroprotektív hatásai (Marsche 2013 nyomán)



2.2.1. A HDL antioxidáns funkciója

Az érlelmeszedés folyamatának egyre mélyebb megértése fokozatosan feltárja a HDL szerepét ebben a folyamatban. A HDL képes megvédeni az LDL-t a szabadgyökök okozta oxidatív károsodástól azáltal, hogy meggátolja a proinflammatorikus hatású oxidált lipidek, elsősorban a lipid hidroperoxidok, de részben a rövid-láncú oxidált foszfolipidek képződését. A HDL átveszi az oxidált LDL-től a lipid hidroperoxidokat (Stremmer 1991), miközben a HDL fehérje és lipid komponensei maguk is módosulnak. A HDL, mialatt a máj SR-BI receptoraihoz szállítja a lipid hidroperoxidokat (Christison 1996), redukálja és ezáltal inaktíválja is azokat. Ebben kiemelkedő szerepet játszanak az apoAI metionin oldalláncai (Garner 1998, Zerrad-Saadi 2009, Christison 1995, Navab 2000 a). Az oxidált foszfolipidek inaktívációjához pedig elsősorban a HDL-hez kapcsolódó enzimek járulnak hozzá (Kontush 2010). Számos kutatás igazolja, hogy a HDL lipid komponensei (tokoferolok, a foszfolipid monolayer rigiditása) jelentősen módosíthatják a fehérje komponensek antioxidáns aktivitását (Bowry 1992, Goulinet 1997, Vila 2002, Zerrad-Saadi 2009).

A lipid hidroperoxidok hatástalanításában a legfőbb szerepet játszó fehérje az apoAI. De ehhez a folyamathoz más apolipoproteinek (apolipoprotein M (apoM), apoE, apoAII), illetve HDL-hez kapcsolódó enzimek (PON1, LCAT, vérlemezke aktiváló faktor acetilhidroláz (platelet-activating factor acetylhydrolase, PAF-AH), glutation peroxidáz, tripanoszómá-litikus faktor peroxidáz-szerű aktivitás) is hozzájárulnak (Rosenson 2013, Zerrad-Saadi 2009, Christison 1995, Goyal 1997, Kriska 2007, Teiber 2004, Maddipati 1987, Molina Portela 2000).

A HDL antioxidáns funkciójában résztvevő apolipoproteinek, enzimek és lipidek megoszlása nem egységes a HDL szubfrakciók között. Éppen ezért a HDL részecskék antioxidáns képessége is eltérő (Kontush 2010). Az antioxidáns hatásban a kis, denz HDL3 kiemelkedő szerepet játszik. Ezen szubfrakció apoAI tartalma magasabb, proteómájának és lipidómájának összetétele és a hozzá kapcsolódó enzimek aránya és azok aktivitása is hozzájárul az oxidált lipid molekulák inaktivációjához (Zerrad-Saadi 2009, Christison 1995, Garner 1998, Kontush 2003, 2007, Bisgaier 1985, Davidson 2009, Florentin 2008, Otocka-Kmieciak 2012, Podrez 2010). Ráadásul ezek a részecskék az oxidatív módosításokkal szemben is ellenállóbbak, mint a nagy, kevésbé denz HDL2 részecskék (Shuhei 2010).

A HDL működését befolyásoló, antioxidáns hatásában az egyik legfontosabb szerepet játszó enzim a PON1, mely a keringésben legfőképp a HDL-hez, ezen belül is inkább a kisebb, kifejezettebb antioxidáns hatású HDL3 részecskéhez kapcsolódik (Gugliucci 2015). Túlnyomórészt a máj termeli, amihez kis mértékben a vese és a vastagbél is hozzájárul (Goswami 2009, Mackness 2010, Soran 2015). Számos kutatás bizonyítja, hogy rendelkezik arilészteráz, foszfodiészteráz (paraoxonáz) és laktonáz aktivitással is (Adkins 1993). Egyes kutatók valószínűsítik, hogy ősi funkciója a laktonáz aktivitás lehetett (Jakubowski 2000), mellyel közreműködik a bakteriális virulencia faktorok neutralizációjában, ezáltal feltételezhetően a természetes immunitás kialakulásában is (Shih 2009). A névadó paraoxonáz

aktivitása segítségével kulcsszerepet játszik az idegméreg hatású organofoszfátok méregtelenítésében (Costa 2013, Shih 1998). Mivel fiziológias szubsztrátja nem ismert (Adkins 1993), a katalitikus aktivitását gyakran arilészteráz és paraoxonáz aktivitása révén határozzák meg. A PON1 arilészteráz aktivitása erősen korrelál a keringő PON1 fehérje mennyiségével és utal annak antioxidáns hatására (Camps 2009, Furlong 2006, Roest 2007), míg a paraoxonáz aktivitást jelentősen befolyásolják a genetikai polimorfizmusok okozta inter-individuális különbségek. (Camps 2009).

Évekkel ezelőtt bizonyítást nyert, hogy a PON1 knockout egerekben szignifikánsan gyorsabban fejlődnek az atheroszklerotikus léziók, miközben ugyanezen egerekből származó HDL nem képes megvédeni az LDL-t az oxidációtól (Shih 1998, 2000), ezzel szemben PON1 hozzáadását követően ez utóbbi funkció helyreállítható volt. Ennek ellenkezője is igazolódott: a PON1 overexpressziója véd az atheroszklerotikus lézió fejlődésétől, és nagyobb védelmet biztosít az oxidatív stresszel szemben (Tward 2002). Közismert tény, hogy a PON1 gátolja a szisztémás lipioxidációt, de ennek pontos mechanizmusa még máig sem teljesen tisztázott. Régóta ismert, hogy a HDL a PON1 segítségével az oxidált foszfolipidek hidrolízisének keresztül képes gátolni az LDL oxidációt (Aviram 1998). Ennek esetleges kiegészítő mechanizmusaként mások (Aviram 2012, Rosenblat 2013) azt feltételezik, hogy a PON1 fokozza a monociták/makrofágok szabadgyökök elleni védekezőképességét és a makrofágokból származó koleszterin eltávolítást (Rosenblat 2011a), illetve elősegíti a HDL azon képességét, amellyel megakadályozza a makrofágok általi LDL oxidációt. Igazolódott az is, hogy a PON1 csökkenti a monocita-kemotaxist és azok endothélhez való kapcsolódását, illetve gátolja a monocita-makrofág differenciációt is (Ahmed 2003, Rosenblat 2011b). Ezekhez hozzáadódik, hogy a PON1 módosíthatja az MPO aktivitását, amit az is bizonyít, hogy in vitro körülmények között PON1-et adva az aktív MPO-hoz, szignifikánsan csökken annak lipid peroxidációs kapacitása, miközben az MPO gátolja a PON1-et. Az utóbbi évek

nagy jelentőségű felfedezése volt, hogy a HDL, az MPO és a PON1 egy hármas egységet alkot, amelyben nemcsak az MPO gátolja a PON1 aktivitását, hanem a PON1 is részlegesen csökkenti az MPO aktivitását (Huang 2013).

A PON1 aktivitás az életkor előrehaladtával, elhízás, dohányzás vagy rendszeres alkoholfogyasztás során csökken (Seres 2004, Koncsos 2010, Macharia 2012). Továbbá aktivitása számos fokozott érlemeszedéssel járó kórképben (2-es típusú cukorbetegség, metabolikus szindróma, familiáris hiperkoleszterinémia, krónikus vesebetegség) is alacsonyabb, sőt soványakkal összehasonlítva elhízottakban is kisebb PON1 aktivitás volt mérhető (Mackness 2003, Paragh 1998, Abbott 1995, James 2006, Graner 2006, Ferretti 2005). Prospektív vizsgálatok meggyőző bizonyítékokat mutatnak a PON1 kardiovaszkuláris betegségekben játszott szerepével kapcsolatban. Egyértelműen igazolódott, hogy a csökkent PON1 aktivitás a vaszkuláris betegségek rizikófaktora (Bhattacharyya 2008, Tang 2012). Néhány kutatás viszont inkább a PON1 polimorfizmusok és a koszorúérbetegség kockázata közötti kapcsolatot vizsgálta. Ezek során igazolódott, hogy a PON1 két leggyakoribb génpolimorfizmusa: a Q192R (glutamin helyett arginin) és a L55M (leucin helyett metionin) az enzim aktivitására és koncentrációjára is hatással van (Adkins 1993, Garin 1997).

A HDL működését számos fehérje képes kedvezőtlenül is befolyásolni. Ezek közül kiemelkedik az MPO, mely egy 144 kDa súlyú lizoszomális hemfehérje, ami a monociták és polimorfonukleáris granulociták azurofil granulumjaiban tárolódik (Roman 2008). A sejtek aktivációját követően az enzim reaktív oxidatív gyököket termel, melyek károsíthatják a fehérjéket, lipideket és a DNS-t is. Baktériumölő hatása révén fontos részét képezi a veleszületett immunitásnak, emellett gátolhatja az adaptív T sejt immunválaszt, illetve nonenzimikus hatása révén elősegítheti a neutrofilek és makrofágok aktivációját, fokozhatja a leukociták felhalmozódását a gyulladós helyszíneken, illetve aktiválhatja az endotél sejteket is. Az MPO ellen képződő autoantitestek (perinukleáris antineutrofil citoplazmatikus

antitest, p-ANCA) ezzel szemben patogén immunválaszt indukálhatnak, ezáltal egyes autoimmun betegségek (például ANCA asszociált vaszkulitiszek) kialakulását segítik elő (Odobasic 2016). Számos kutatás foglalkozik az érlelmeszesedés folyamatában játszott szerepével is (Hoy 2001). Az LDL oxidációja révén elősegíti azok felvételét a makrofágokba, amellyel hozzájárul a habos sejtek képződéséhez (Moldovenau 2006). Az MPO oxidatív módon módosítja az apoAI-t is, mely révén károsodik az ABCA1-hez történő HDL-kötődés, ami az ABCA1-dependens reverz koleszterin transzport zavarához vezet, illetve gátolja a HDL anti-inflammatorikus és anti-apoptotikus tulajdonságait is (Roman 2008, Zheng, Undurti 2009). Emellett az MPO közvetlenül károsítja a HDL-hez kötött PON1 működését (Huang 2013), illetve az ABCG1-dependens koleszterin transzportot (Shao 2010 a). Ebből adódóan az emelkedett MPO szintet kapcsolatba hozták a fokozott érlelmeszesedéssel (Kataoka 2014), sőt számos tanulmány vizsgálja az MPO-t, mint kardiovaszkuláris markert (Zhang 2001, Biasucci 1996). Az MPO jelentőségét megerősíti az is, hogy számos mieloperoxidáz inhibitorral (AZD3241, N-acetyl-lysyltyrosylcysteine-amide, PF-06282999, PF-1355) zajlanak kutatások, melyek hasznosak lehetnek az MPO által közvetített oxidatív stressz és gyulladás megelőzésében, ezáltal a jövőben esetlegesen új terápiás lehetőséget jelenthetnek a Parkinson kór, a kardiovaszkuláris betegségek és akár a vaszkulitisz kezelésében (Jucaite 2015, Zhang 2015, Ruggeri 2015, Zheng 2015).

Az utóbbi időben igazolódott, hogy egy másik enzim, a mátrix metalloproteináz -9 (MMP-9), is képes komplexet kialakítani a HDL-lel, főként a HDL2-vel, ezáltal hozzájárulhat a diszfunkcionális HDL képződéséhez (Sini 2014). A cink-függő endopeptidáz családba tartozó MMP-k kulcsszerepet játszanak az extracelluláris mátrix lebontásában, így hozzájárulnak a vulnérabilis atheroszklerotikus plakkok képződéséhez és destabilizációjához, ezáltal a kardiovaszkuláris események kialakulásához (Nagase 2006, Mittal 2014). A metalloproteináz szöveti inhibitorok (tissue inhibitor of metalloproteinase, TIMP) az MMP-khez kapcsolódva

szabályozzák azok aktivitását. Számos kutatás bizonyítja, hogy kardiovaszkuláris betegségben szenvedőkben a TIMP-1 szint emelkedett (Wang 2015, Inokubo 2001), illetve igazolódott az is, hogy a TIMP-1 a kardiovaszkuláris mortalitás független prediktora (Cavusoglu 2006). Feltételezik, hogy ez a magas TIMP-1 szint az emelkedett MMP aktivitásra kialakuló kompenzatórikus választ tükrözheti (Kelly 2010).

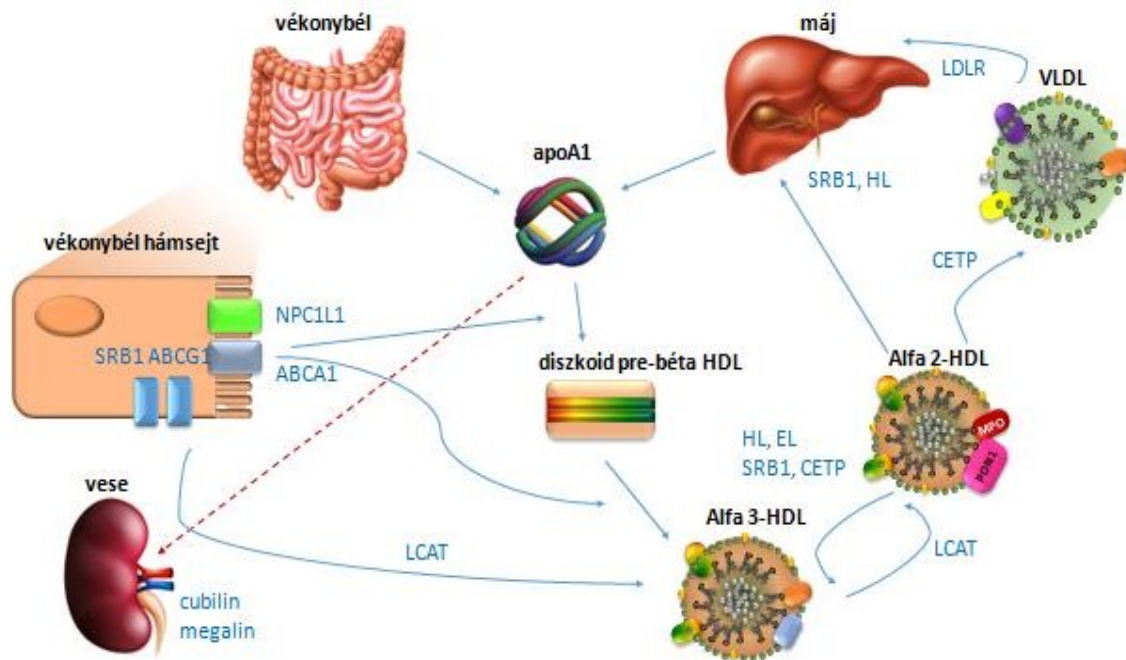
2.2.2. Reverz koleszterin transzport

A reverz koleszterin transzport során a HDL a perifériás szövetektől a májba szállítja a sejtek koleszterin feleslegét, ami ezt követően vagy kiválasztódik az epébe és a széklettel távozik, vagy a mellékvesékbe, herékbe és petefészkekbe kerül szteroidhormon termelés céljából, (Perez-Mendez 2014, Lüscher 2014). E folyamat révén a HDL ellensúlyozni tudja az atheroszklerotikus plakk kialakulásához és fejlődéséhez vezető folyamatokat. A különböző HDL szubfrakciók különböző mértékben képesek elősegíteni a koleszterin effluxot (Annema 2013, Vickers 2014).

A RCT első lépése, a koleszterin efflux során szabad koleszterin jut ki a sejtekből. Ebben egymással párhuzamosan passzív és aktív folyamatok is szerepet játszanak (Zanotti 2012). A reverz koleszterin transzportban lényegesen nagyobb szerepet töltenek be a transzportfehérjéken keresztül zajló, aktív folyamatok. Eddig három lényeges transzportert azonosítottak: ABCA1, ABCG1 és a SR-BI. A legfontosabb szerepet az ABCA1 látja el, mely a nem-észterifikált koleszterin mellett foszfolipideket, főleg foszfatidilkolint szállít a lipid-mentes vagy lipid-szegény apoAI-re, mely révén hozzájárul a pre-béta-HDL képződéséhez is. Míg az ABCA1 elsősorban a lipid-szegény apoAI-re, addig az ABCG1 és a SR-BI főként az érett HDL-re szállít koleszterint (Harangi 2005, Favari 2015, Bortnick 2000, Haghpassand 2001, Tall 2008, Rosenson 2012).

A reverz koleszterin transzport során maga a HDL is strukturális és funkcióbeli változáson megy keresztül (2. ábra).

2. ábra: Az apoA1 központi szerepe a reverz koleszterin transzportban (Lüscher 2014 nyomán)



Első lépésként a lipidszegény apoA1 a plazma membránból származó foszfolipidekkel és nem-észterifikált koleszterinnel együtt pre-béta HDL-t képez (Fisher 2012). A pre-béta-HDL (naszcens HDL) diszkoid alakú, lipidszegény, fehérjegazdag HDL előalak (Nanjee 2001). Az össz-koleszterin mennyiség kb. 5%-át teszi ki, apolipoproteinek közül csak apoA1-et tartalmaz (Nanjee 2001, Castro 1988). Ez a HDL-frakció veszi fel legnagyobb mértékben a sejtekből (májsejt, enterocita, makrofág) kiáramló szabad koleszterint (Castro 1988, Lüscher 2014). A kis pre-béta1-HDL molekulákból koleszterin felvétele után nagyobb, de még mindig korong alakú pre-béta2-HDL alakul, melyekből a koleszterin észterifikációja és további apoA1 felvétel révén már gömb alakú alfa3-HDL, majd alfa2-HDL képződik (Sasahara 1998). Az alfa-HDL már többfajta apolipoproteint is tartalmaz. Ez a szubfrakció teszi ki a keringő

HDL jelentős részét, de a szabad koleszterin felvételében valószínűleg már nem játszik jelentős szerepet (Fielding 1981).

A reverz koleszterin transzport zavartalan működését számos enzim biztosítja. Az egyik ilyen enzim a CETP, ami révén az alfa2-HDL részecskéről koleszterin észter kerül át a trigliceridben gazdag lipidrészecskékre (az apoB tartalmú nagyon alacsony sűrűségű lipoproteinre (very low density lipoprotein, VLDL), közepes sűrűségű lipoproteinre (intermediate density lipoprotein, IDL) és LDL-re, miközben triglicerid kerül vissza a HDL-re ugyanezen részecskékről (a VLDL-ről, IDL-ről és az LDL-ről). A transzportfehérje révén az alfa2-HDL-ről apoAI is átkerül az alfa3-HDL-ra és a pre-béta2-HDL-re (Brown 1989, Hill 1997). Az RCT másik fontos enzime a HDL-hez kapcsolódó LCAT, mely zsírsavakat szállít a lecitinről (foszfatidilkolinról) a koleszterinre, ezáltal észterifikált koleszterin és lizolecitin (lizofoszfatidil-kolin) képződik. Leghatékonyabb aktivátora az apoAI, de ezen kívül az apoAII, apolipoprotein AIV (apoAIV), apoCII és az apoCIII is képes aktiválni (Jonas 2000, Jin 2002). A foszfolipid transzferfehérje (PLTP) révén foszfolipid kerül át a VLDL-ről és a kilomikronokról a HDL-re, mely révén megváltozik a HDL lipidösszetétele és mérete, és hozzájárul az alfa2-HDL-pre-béta-HDL átalakuláshoz (Tollefson 1988). A döntően májban termelődő hepatikus lipáz (HL) a triglicerid és foszfolipidek hidrolízisét segíti elő, mely révén a VLDL és IDL részecskékből LDL, míg az alfa-HDL-ből pre-béta-HDL képződik, illetve hozzájárul a HDL SR-BI-hez való kötődéséhez, ezáltal az észterifikált koleszterin májba történő felvételéhez (Conelly 1999). Az SR-BI tehető felelőssé a máj HDL-felvételének döntő hányadáért (Annema 2012), ezen túlmenően pedig egyéb szteroidképző szerv észterifikált koleszterin felvételéért is felel (Trigatti 2000).

A májsejtekben a koleszterin vagy közvetlenül szekretálódik az epébe vagy epesavakká alakul. A vékonybélben ezt követően vagy a NPC1L1-en keresztül reabszorpcióra kerülhet vagy szekretálódik az ATP-kötő kazetta protein G5/G8 (ABCG5/G8) heterodimer

segítségével. Ezt alátámasztja az is, hogy a NPC1L1 alacsony aktivitása növeli, az ABCG5/G8 alacsony aktivitása csökkenti a koleszterin székletbe történő kiválasztását (Annema 2012). A vékonybél a szterin felszívódás mellett a koleszterin direkt szekréciójában is közreműködik, amit transzintesztinalis koleszterin exkréciónak nevezünk (TICE) (Tietge 2013).

Látható, hogy a CETP az SR-BI által mediált útvonalon a koleszterin-észter eltávolításán keresztül, a HL és az endotheliális lipáz (EL) pedig a trigliceridek és foszfolipidek lipolízisén keresztül vezet a HDL2-HDL3 átalakuláshoz, majd pedig a pre-béta1-HDL képződéshez (von Eckardstein 2010 a, Rosenson 2012). A megmaradó lipidmentes vagy lipid-szegény apoAI részecskék pedig vagy ismételten a HDL képződéséhez járulnak hozzá vagy a vese glomerulusain át filtrálódnak, ami a proximális tubulusokban található cubilin és megalin receptorok által mediált endocitózissal történik (Graversen 2008).

Az apoAI reverz koleszterin transzportban játszott kulcsszerepét hangsúlyozza, hogy az atheroszklerotikus artéria intimájában megtalálható sejtek számos olyan proteázot választanak ki, melyek módosíthatják a HDL-t, részben az apoAI C terminálisának proteolízise révén, ami így nem tud kapcsolódni az ABCA1-hez, és emiatt csökkenhet az ABCA1 mediálta koleszterin kiáramlást elősegítő képessége és a HDL biogeneze (Lee-Rueckert 2011 a, b, Favari 2002, 2004, Chroni 2003, 2004, Lindstedt 1999, Eberini 2002, Lee 2003, Daniil 2013). Sőt egyes kutatások alapján az apoAI proteolízise károsíthatja az ABCG1 mediálta koleszterin effluxot elősegítő képességét is (Daniil 2013). Közismert az is, hogy az MPO által katalizált nitrálás és klórozás egyik célpontja az apoAI (Zheng 2004), azt feltételezik, hogy ezáltal az apoAI oxidatív károsodása korlátozza az apoAI-et abban, hogy a HDL-ből egy lipid-mentes formában felszabaduljon, ezáltal károsítja kicserélődését, ami szintén az ABCA1 mediált koleszterin efflux csökkenéséhez járul hozzá (Cavigiolio 2010).

2.2.3. A HDL egyéb (anti-atherogén) funkciói

A HDL a perifériás sejtek koleszterin feleslegének májba szállítása mellett fontos szerepet tölt be számos sejtfunkció szabályozásában is (3. ábra). Hatással van a hemopoetikus őssejtek proliferációjára és mobilizációjára, a megakariociták proliferációjára (Tall 2012, Murphy 2013). Csökkenti a sejt adhéziós molekulák endothel sejten való expresszióját, ezáltal megakadályozza a keringő fehérvérsejtek adhézióját, gátolja a makrofág kemotaktikus faktor 1 aktivitását, ezáltal a monociták infiltrációját az érfalba, csökkenti a makrofágok LDL-indukálta apoptózist, sőt közvetlenül stimulálja az endotheliális nitrogén-monoxid-szintetáz-mediálta (eNOS-mediálta) nitrogén-monoxid (NO) termelést (Tall 2012, Murphy 2013, Westerterp 2013, Sorci-Thomas 2012, Terasaka 2010, Kruit 2012, Cui 2007, Yuhanna 2001, Besler 2011, Mineo 2003, Nofer 2004, Ramet 2003, Sorrentino 2010, Barter 1996, Drew 2004, Kuvin 2002, Nicholls 2005 b, Ansell 2003, Navab 1991). Ezen kívül hatással van az anti-inflammatorikus adiponektin zsírszövetből való felszabadulására, ezáltal növeli az adiponektin inzulinérzékenyítő képességét (Van Linthout 2010), sőt fokozza a hasnyálmirigy béta-sejtjeinek inzulinszekrécióját és csökkenti a béta-sejtek apoptózist is (Rütti 2009).

A HDL antithrombotikus hatással is rendelkezik, mivel csökkenti a szöveti faktor expressziót az endothel sejtekben, gátolja az V-ös faktor (FV) aktivációt (Griffin 1999) és csökkenti a vérlemezke aktivációt, így a szerotonin felszabadulást és a thromboxán B2 termelést, gátolja a trombocita aggregációt (Viswambharan 2004, Aviram 1985). Számos tanulmány megerősítette a HDL-C szint és különböző patológiás thrombotikus állapotok közötti fordított kapcsolatot (Wang P 2013, Wang 2010). Ezen túlmenően egyes egérekísérletekben vaszkuláris sérülést követően a HDL hozzájárult az endothelialis repair folyamatokhoz, és hatással volt az endothelialis apoptotikus útvonalakra is (Besler 2011, Riwanto 2013).

Meglepő módon a HDL szintén fontos szerepet tölt be a szervezet védekezőképességében is, mivel az apoAI képes megkötni egyes baktériumok lipopoliszacharidjait (Henning 2011). Néhány kórokozó kifejezetten a HDL-t célzó támadó képességet fejlesztett ki. Például a

Streptococcus pyogenes egy olyan fehérjét választ ki, amely az apoAI-hez, illetve apoAII-höz kötődik (Shah 2013). Igazolódott továbbá az is, hogy az akut fázis reakció során a HDL-ben egyes fehérjék (apoAI, transztiretin, retinol-kötő fehérje), a koleszterin és a foszfolipid szintje csökken csakúgy, mint a PON1 aktivitás (Khovidhunkit 2004), míg más fehérjék (SAA, apoJ/clusterin, lipopoliszacharid kötő fehérje) és a triglicerid szintje nő (Shah 2013, Cabana 1996). Egyes feltételezések szerint habár ezek a változások eleinte védik a szervezetet a betörő patogénekkal szemben, hosszú időn keresztül fennálva hozzájárulhatnak az érlemezés kialakulásához is (Khovidhunkit 2004).

2.3. A HDL összetételét és működését befolyásoló tényezők

A HDL összetételét és működését endogén módon genetikai tényezők, exogén módon a hozzá kapcsolódó, azzal funkcionális egységet alkotó enzimek/molekulák jelenléte és aktivitása is (pl. PON1, MPO), illetve bizonyos betegségek és gyógyszeres kezelés is befolyásolhatja.

2.3.1. A HDL összetételét és működését befolyásoló genetikai tényezők

Mindeztidáig több mint 40 olyan gént azonosítottak, ami hatással van a HDL koleszterin szintjére. Ezek közül a legjelentősebbek az *APOAI*, *ABCAI* és az *LCAT*, melyek a de novo HDL képződésért felelősek. Ezen kívül a HDL koleszterin szintet nagymértékben befolyásolja még a *CETP*, az SR-BI-ért felelős *SCARBI*, a *LPL*, a HL-ért felelős *LIPC* és az EL-ért felelős *LIPG* gének. Ezen túlmenően számos olyan gént azonosítottak, melyek az előbbieknél kisebb mértékben ugyan, de mégsem elhanyagolható mértékben hatást gyakorolnak a HDL-C szintjére. Azonban fontos hangsúlyozni, hogy ritka, amikor a HDL-C szint változása a többi lipid paraméter változása nélkül következik be (Kuivenhoven 2015). Egy 2010-ben megjelent

tanulmányban Teslovich és munkatársai több mint 100000 egyént vizsgálva 95 olyan locus azonosítottak, amelyek az összkoleszterin, az LDL-C, a HDL-C vagy a triglicerid szint legalább az egyikének szintjére hatással vannak. Ezek közül 31 olyan gént sikerült kiemelni, amelyek szignifikánsan befolyásolták a HDL-C szintet. A kutatás során a vizsgált locusok között szerepelt a *NPC1L1* is (Teslovich 2010).

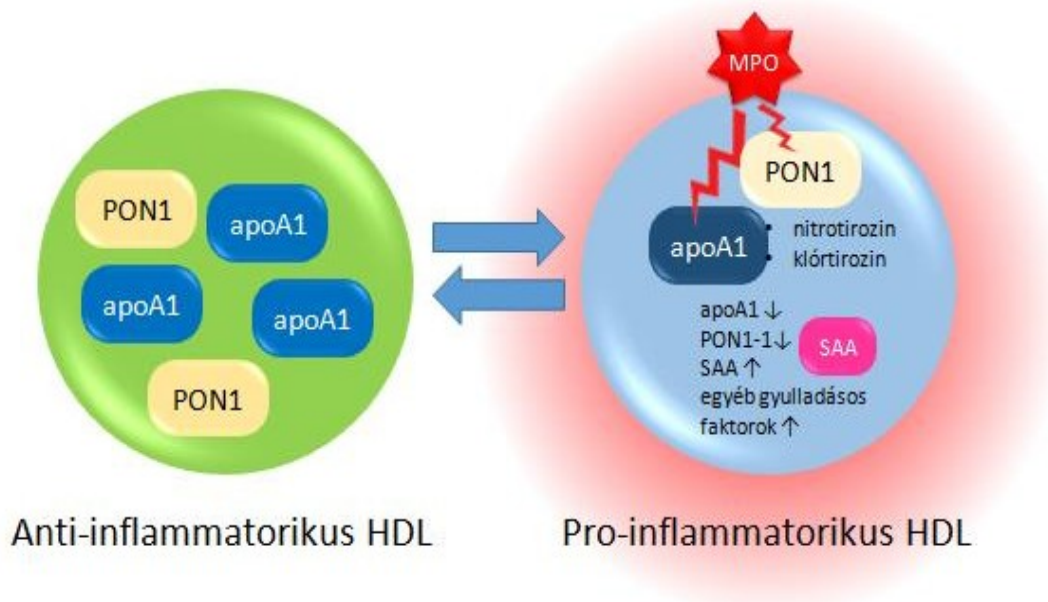
A *NPC1L1* fehérje akkor került a figyelem középpontjába, amikor kiderült, hogy az ezetimib ezen fehérjéhez kötődve gátolja a koleszterin felszívódását (Garcia-Calvo 2005). A *NPC1L1* 29 kb nagyságú génje a 7. kromoszómán helyezkedik el. *NPC1L1* knockout egerekben alacsonyabb koleszterin felszívódás igazolódott, mint a vad típusúakban, ráadásul ezekben az állatokban nem lehetett további koleszterin felszívódásbeli csökkenést kimutatni ezetimib adása után (Altmann 2004). Ráadásul a *NPC1L1* gén szekvenálása után igazolódott, hogy egyes *NPC1L1* variánsokat hordozókban szignifikánsabb alacsonyabb a koleszterin felszívódás, mint az azokat nem hordozó emberek esetében (Cohen 2006). Mára több mint 140 SNP-et és 5 inszerciót/deléciót azonosítottak a *NPC1L1* génen belül (Hegele 2005, Simon 2005, Lupatelli 2013). Ezek közül számos SNP befolyásolja a statin (hidroxi-metil-glutaril-koenzim-A reduktáz gátló) vagy a statin-ezetimib kombinációs kezelésre adott választ is (Hegele 2005, Simon 2005). Nemrég igazolódott, hogy a c.-133A>G szignifikáns hatást fejt ki a *NPC1L1* promóter aktivitására, és pravastatin kezelés során szignifikánsan befolyásolta a statin kezelés lipidcsökkentő hatását (Polisecki 2010). Egy másik, 375 egészséges önkéntesből és hyperlipidaemiás betegtől álló tanulmány statin kezelés mellett vizsgálta az ezetimib hatékonyságát. A kezdeti koleszterin szint és a polimorfizmusok között nem találtak összefüggést, de az ezetimibre adott válasz és a SNP-ek között volt kapcsolat (Simon 2005). A vizsgálatok számottevő része azonban az ezetimib hatását csak statinnal való kombinációban vizsgálta, az egyes SNP-ek ezetimib monoterápiára adott válaszra kifejtett hatását még nem vizsgálták.

2.3.2 HDL összetételét és működését befolyásoló betegségek

Számos betegségben (úgy mint szívkoszorúér-betegség, 2-es típusú cukorbetegség, metabolikus szindróma, szisztémás lupusz eritematózus, reumatoid arthritis, Crohn betegség, antifoszfolipid-szindróma, pszoriázis, krónikus vesebetegség, illetve bizonyos környezetszennyezések) igazolódott a diszfunkcionális HDL jelenléte, mely már inkább prooxidáns és proinflammatorikus hatású. A diszfunkcionális HDL-ben csökken az atheroprotektív molekulák (apoA1, PON1, apolipoprotein J (apoJ), szfingozin 1 foszfát) és fokozódik a proatherogén molekulák (SAA, hemoglobin-hemopexin komplex, cöruoplazmin, szimmetrikus dimetil-arginin és ApoCIII) szintje. Ugyanakkor magasabb oxidált zsírsav és malonaldehid tartalom és – részben az MPO által okozott klórozást vagy nitrálást követően – az apoAI oxidatív módosulása, illetve a PON1 aktivitásban is változás mutatható ki (Navab 2011, Yin 2013, Charakida 2009, McMahon 2006, de Souza 2008, Persegol 2006, Sorrentino 2010, Ansell 2003, Besler 2011, Riwanto 2013, Arsenault 2012, Heinecke 2009, Speer 2013) (3. ábra). Ezen változások folytán a diszfunkcionális HDL nem képes megelőzni az LDL oxidációját, valamint károsodik a reverz koleszterin transzport és az LDL által kiváltott monocita kemotaktikus aktivitás gátlás. Csökkent vagy hiányzik az endothelialis eredetű vaszkuláris sejtadhéziós molekula-1 (VCAM-1) expressziója és a fehérvérsejtek aktivált endothel sejtekhez történő adhéziója. Megváltozik a HDL endothelre kifejtett hatása is: nem képes az endothel sejt eredetű NO képzés serkentésére, csökken az endothel gyulladásoos aktivációt gátló kapacitása és károsodik az endothelialis repair funkció (Navab 2000 b, 2001, Morgantini 2011, Patel 2011, 2013, Sorrentino 2010, Besler 2011, Bergt 2004, Huang 2014, Shao 2006, 2010 b, Ansell 2003, Riwanto 2013, Kimura 2001, 2003, Nofer 2001, de Souza 2010, Suc 1997, Sugano 2000).

3. ábra: Az anti-, és pro-inflammatorikus HDL (az apoAI, PON1, MPO szempontjából)

(Ansell 2005 nyomán)



2.3.3. HDL összetételét és működését befolyásoló gyógyszeres kezelések

A HDL-C és a kardiovaszkuláris események közötti fordított kapcsolat alapján a HDL-C szint-emelkedés vonzó terápiás célpontnak tűnhet, emiatt sok gyógyszert fejlesztenek és vizsgálnak. Mégis számos, koszorúérbetegség körében végzett klinikai vizsgálat során a HDL-C szint emelkedése ellenére sem sikerült a kardiovaszkuláris kockázat jelentős csökkenését elérni (Riwanto 2015).

A hidroxil-metil-glutaril-koenzim-A-reduktáz gátlók, közismert nevükön a statinok átlagosan 3-13%-kal emelik a HDL-C szintet (Barter 2010). Emelik az apoAI szintet (Barter 2010), a máj ABCA1 gén expresszióját (Tamehiro 2007), gátolják a CETP aktivitást (Guerin 2000, Kassai 2007) és szignifikánsan növelik a PON1 antioxidáns aktivitását (Fuhrman 2002, Harangi 2004, 2009, Nagila 2009). A HDL szubfrakciókra és részecske méret eloszlásra kifejtett hatásokról szóló irodalom nem egységes, hatásuk elsősorban a vizsgálat során alkalmazott technikától függ (Alaupovic 1994, Bard 1989, Franceschini 1989, 2007, Tomas

2000, Homma 1995). Egyes vizsgálatok szerint 2D gél elektroforézissel vizsgálva a HDL szubfrakciókat, valamennyi statin növeli a nagy HDL részecskék szintjét és csökkenti a kis részecskék szintjét, csupán hatékonyságuk különböző (Asztalos 2002 a, b, 2007).

A fibrátok jelentősen, 30-50%-kal csökkentik a triglicerid szintet és 10-20%-kal emelik a HDL-C szintet is (Khoury 2011), ennek ellenére a vizsgálatok nagy része nem, vagy csak minimális kardiovaszkuláris hasznot tudott kimutatni alkalmazásuk során (Ginsberg 2010, Keech 2005). A fibrátok szignifikánsan emelik a PON1 aktivitást (Paragh 2003, Phuntuwate 2008), és az ABCA1 transzporter aktivitásának fokozása révén hatással vannak a koleszterin effluxra (Berger 2005). Ezen túlmenően a HDL-C szint-emelkedés hátterében szerepet játszhat az apoAII és a kisebb mértékű apoAI expressziót fokozó hatásuk is (Yetukuri 2011). Egyes állatkísérletek beszámolnak a fenofibrát CETP expressziót csökkentő hatásáról is (van der Hoogt 2007). Kutatások megerősítik, hogy a fibrátok elsősorban a nagy HDL részecskék szintjét növelik (Franceschini 2007, Otvos 2006).

Cukorbetegség körében végzett vizsgálatok során a peroxiszóma-proliferátor-aktivált receptor-gamma (PPAR- γ) agonisták (a roziglitazon akár 14%-kal, míg a pioglitazon akár 19%-kal) képesek voltak megemelni a HDL-C szintjét (Millar 2011, Chiquette 2004, Goldberg 2005). Ennek ellenére a nagy vizsgálatokban alkalmazásuk során csak minimális kardiovaszkuláris haszon igazolódott, sőt ezek a gyógyszerek folyadékretenciót okozó hatásuk révén megnövelték a szívelégtelenség előfordulását (Bertrand 2010, Nissen 2007 a, Home 2007, 2009, Inzucchi 2005, Masoudi 2005).

A niacin fokozza a PON1 aktivitást és az apoAI szintet. Körülbelül 15-30%-kal emeli a HDL-C szintet, ezen belül is szignifikánsan növeli a nagy HDL2 részecskék szintjét, amivel elősegíti a HDL érését (Shepherd 1979, Lamon-Fava 2008, Hamoud 2013). A nagy tanulmányok nem mutatnak egységes eredményeket a kardiovaszkuláris kockázatra vonatkozó hatásával kapcsolatban. Az ARBITER 6-HALTS vizsgálat során a niacin

csökkentette a plakk képződést a carotisban és koszorúerekben, ezzel szemben az AIM-HIGH vizsgálatot a niacin relatív haszon hiánya és a niacinnal kezelt csoportban előforduló iszkémiás agyi infarktusok nagyobb száma miatt hamarabb leállították (Villines 2010, Boden 2011).

A CETP inhibitorok csökkentik a koleszterin-észterek transzportját a különböző HDL részecskék között (HDL2-ről HDL3-ra), illetve a HDL-ről a VLDL-re vagy az LDL-re, ezáltal 30-140%-kal képesek emelni a HDL-C szintet (von Eckardstein 2010 b). Habár nagy reményeket fűztek használatukhoz, alkalmazásuk eddig nem hozta meg a várt eredményeket. Meglepő módon a torcetrapib 80%-kal növelte a HDL-C szintet, de nem csökkentette sem a carotis intima-media vastagságot, sem a koszorúerek plakk méretét, sőt a fokozott aldoszteron szekréció révén emelte a vérnyomást és az eNOS aktivitás csökkentésén és a reaktív oxigéngyökök illetve az endothelin-1 felszabadulás fokozásán keresztül endothel diszfunkciót is okozott. Fokozott morbiditást és mortalitást okozó hatása miatt alkalmazását beszüntették (Barter 2007, Bots 2007, Nissen 2007 b, Hu 2009, Forrest 2008, Simic 2012). Vizsgálatok megerősítik, hogy más CETP inhibitorok nincsenek hatással az aldoszteron szekrécióra (Lüscher 2014). Ennek ellenére a dalcetrapibbal végzett vizsgálatokban annak abszolút hatástalansága miatt a gyógyszer alkalmazását hamarabb leállították (Schwartz 2012). A dalcetrapib semleges hatását az magyarázhatja, hogy a koleszterin szintet csupán 30%-kal, az apoAI szintet pedig csak 18%-kal emeli, ami valószínűleg nem elég az endothel funkció és a rizikócsoportha eső betegek kimenetelének javításához. Ezzel szemben az anacetrapib 140%-kal emeli a HDL-C szintet, és ez a hatás talán már javíthatja a kardiovaszkuláris kimenetelt (Gutstein 2012).

A jelenleg használt gyógyszerek mellett számos új, más hatásmechanizmusú gyógyszert fejlesztenek. A jövőben a reverz koleszterin transzportot fokozó kezelések ígéretesnek látszanak az érlemezésedés során kialakult kardiovaszkuláris betegségek megelőzésében és

kezelésében. Ilyenek a CETP antiszensz oligonukleotidok (Bell 2013), magreceptor aktivátorok, koleszterin felszívódás gátlók, vagy az apoAI mimetikumok (Maugeais 2013, Lee-Rueckert 2011 a, Navab 2004, Bielicki 2010, Amar 2010). Ezek közül többet már klinikai gyakorlatban is alkalmaznak vagy I-III fázisú vizsgálatokban tesztelnek (Favari 2015). A fentieken kívül számos más módon ható gyógyszerrel (rekombináns HDL (rHDL) részecskék, acetyl-coenzimA-acetyltransferáz 2 (ACAT2) gátlás oligoszensz nukleotidokkal, endotheliális lipáz és CETP gátlás antitestekkel, anti-tumor-nekrózis-faktor-alfa (anti-TNF-alfa) kezelés, illetve rituximab – anti-CD20 antitest) folynak vizsgálatok. Ezen túlmenően sok új eljárással (apoAI alapú infúziós terápia, illetve a szelektív delipidáció, mikroribonukleinsav (mikroRNS) alapú terapiák), immunizációs és vakcinációs kezelésekkkel is zajlanak kutatások. Habár ezek közül jónéhány még igencsak kezdeti stádiumban van - szintén arra hívják fel a figyelmet, hogy ez egy új, lehetőségekkel teli terület (Stoekenbroek 2015, Davalos 2015).

2.3.3.1. Statin intolerancia, ezetimib monoterápia

A statinnal kezelt betegek egy részénél ún. statin intolerancia alakulhat ki, és bár a statin okozta mellékhatások gyakorisága nem nagyobb, mint más gyógyszereké, a kezelt betegek nagy száma miatt ennek jelentősége mégis megnőtt. A leggyakoribb probléma a jellegzetesen a végtagok proximális izmaiban jelentkező fájdalom, mely lehet miopátia (izomgyengeség vagy izomlázra emlékeztető izomfájdalom, kreatinin-kináz (CK) szint emelkedés nélkül, incidenciája 3-5%), mialgia/miozitisz (izomfájdalom, melyet a normálérték felső határának tízszeresét meghaladó CK-emelkedés kísér, incidenciája 0,1-0,2%), illetve rhabdomyolízis (amit az izomfájdalom mellett a normálérték felső határának ötvenszeresét meghaladó CK-emelkedés, mioglobulinémia, mioglobulinuria és következményes veseelégtelenség jellemez, ennek incidenciája 0,01%) (Harangi 2013a, Bays 2006, Banach 2015). A hepatopátia (normálérték felső határát háromszorosan meghaladó májenzimszint-emelkedés) incidenciája

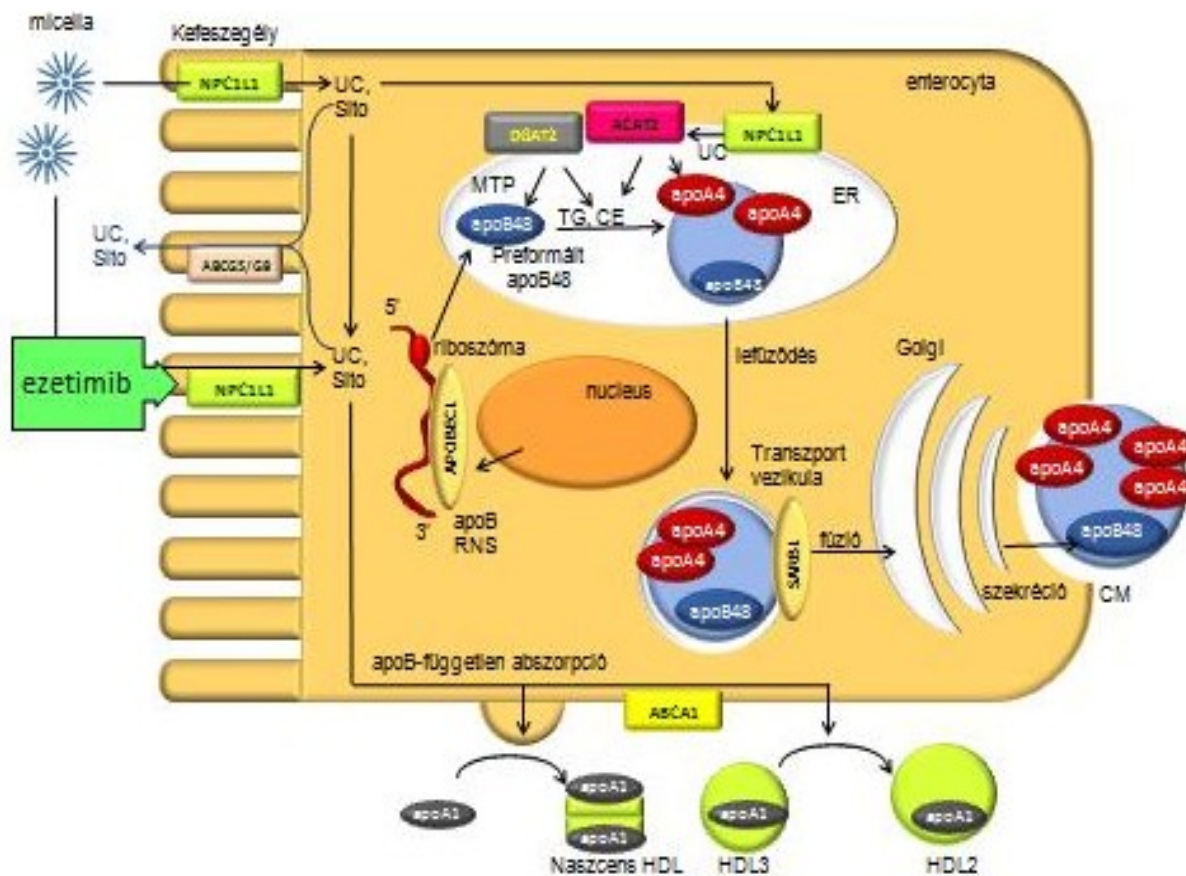
kevesebb, mint 3% (Banach 2015). A fentiekén túl kialakulhatnak gasztrointesztinális mellékhatások (hasi fájdalom, hasi diszkomfort, epigasztriális görcs, diszpepszia, puffadás, flatulencia, hányinger, hányás, étvágytalanság, székrekedés vagy hasmenés), bőrviszketés, bőrkiütés, hajhullás, ízérvészavar, ritkán súlyos idegrendszeri vagy pszichiátriai mellékhatások (neuropátia, zavartság, kóros aluszékonyág vagy álmatlanság), erektilis diszfunkció, ginekomasztia, ízületi fájdalom. Statin intolerancia esetén a panasz vagy laboratóriumi eltérés a gyógyszer szedésekor vagy azt követően néhány héten, legfeljebb fél éven belül kezdődik, és a készítmény elhagyása után megszűnik.

A statin intoleráns betegek kardiovaszkuláris kockázat csökkentése a proprotein konvertáz-szubtilizin/kexin típus-9 (PCSK9) gátlók széleskörű elterjedése előtti érában nem teljesen megoldott. Az ezetimib kardiovaszkuláris kockázatot csökkentő hatása ugyan a statinokénál mérsékeltebb (Banach 2015), de a jelenleg hozzáférhető gyógyszerek közül a statin intoleráns betegek esetében ez az egyik leggyakrabban javasolt terápia, éppen emiatt ezen betegek körében elterjedt az ezetimib monoterápia alkalmazása. Az ezetimib jól tolerálható monoterápiás gyógyszer (Stulc 2015), átlagosan 15-20%-os LDL-C-szint csökkenést és körülbelül 3%-os HDL-C-szint emelkedést eredményez (Knopp 2003, Pandor 2009).

A NPC1L1 fehérje egy politopikus transzmembrán fehérje, mely a jejunum epiteliális sejtjeinek kefeszegélyében helyezkedik el, és döntő szerepet játszik a koleszterin és a növényi szterolok felszívódásában (Altmann 2004, Davis 2004, Betters 2010) (4. ábra).

A bélben lévő koleszterin a táplálékból, illetve a kiválasztott epéből, kis mennyiségben pedig a vékonybélből leváló epitélisejtekből és feltételezhetően a direkt transzintesztinális koleszterin effluxból származik (Davis 2011, Davidson 2013). A koleszterin a NPC1L1 fehérjén keresztül jut a vékonybél hámsejtbe (Davis 2004), mely során a NPC1L1 meghatározza a keringésbe kerülő koleszterin mennyiségét (Castro-Torres 2014).

4. ábra: A koleszterin felszívódás a NPC1L1 fehérjén keresztül (Williams 2008 nyomán)



UC-észterifikálatlan koleszterin, sito- szitoszterol, TG- triglicerid, CE- koleszterin észter, DGAT2-diacilglicerol-O-acoltranszferáz 2, ACAT2-acetil-koenzimA-acetiltranszferáz2, ER-endoplazmatikus retikulum, APOBEC1-APOB mRNA vágó komplex-1, MTP-mikroszomális transzfer fehérje, CM-kilomikron

A koleszterin transzportja klatrin mediált vezikuláris endocitózissal történik (Wang 2011). A bélhámsejt endoplazmás retikulumában a koleszterin az ACAT2 segítségével észterifikálódik, és a sejt bazolaterális oldalán elhelyezkedő ABCA1 transzporter révén bekerül a nyirokrendszerbe, ami a májba szállítja (Castro-Torres 2014). A nem észterifikált koleszterin és a fitoszterolok jelentős része az ABCG5/G8 révén visszakerül a bél lumenébe (Berge 2000, Lee 2001, Yu 2002, Brunham 2006). Ha a sejtek koleszterin tartalma csökken, a NPC1L1 a membránban expresszálódik, ha pedig a sejtek telítődtek koleszterinnel, a receptor az endoszómákba internalizálódik. Az ezetimib ezt az internalizációs folyamatot akadályozza

meg (Costet 2010, Ge 2008). Mivel az ezetimib csökkenti a máj felé haladó koleszterin mennyiségét, az LDL-receptorok száma fokozódik, ami az LDL katabolizmusának fokozódásához, ezáltal pedig az LDL-C szint csökkentéséhez vezet. Ezen túlmenően egy 2013-ban megjelent tanulmányban Davidson és munkatársai hiperkoleszterinémias betegek esetében igazolták, hogy az ezetimib a reverz koleszterin transzport számos részfolyamatát is fokozza. Vizsgálatuk során az ezetimib fokozta a plazmából származó koleszterin kiválasztását a székletbe, ami a koleszterin-észterek eltávolításának fokozódásán és a de novo koleszterin szintézis kompenzatórikus fokozódásán keresztül a RCT aktivitásának fokozódását eredményezte (Davidson 2013).

A NPC1L1 a májsejtek kanalikuláris membránjában is expresszálódik, ami elősegítheti a májsejtek biliáris koleszterin felvételét. Ez a mechanizmus egyes feltételezések szerint azért alakulhatott ki, hogy megakadályozza a túlzott mértékű biliáris koleszterin-vesztést. Vizsgálatok igazolták, hogy az ezetimib ezt a folyamatot is gátolja (Temel 2007). Ennek ellenére ezetimib kezelés során az epeköves betegekben az epe koleszterin tartalmának csökkenése figyelhető meg. Ennek az ellentmondásnak az egyik lehetséges magyarázata az, hogy a májban expresszálódó ABCG5/G8 transzporter biliáris koleszterin szekrécióra irányuló hatása erősebb, mint a NPC1L1 által mediált biliáris koleszterin felvételre kifejtett hatása. Ezen túlmenően az ezetimib általi intesztinális koleszterin felszívódás gátlása jóval nagyobb mértékű, mint az ezetimib gátló hatása a hepatikus NPC1L1 mediálta biliáris koleszterin felvételre (Wang 2008, Wang H 2013).

2.4. A HDL funkcióval kapcsolatos vizsgálatok klinikai jelentősége

Egyre több a bizonyíték, hogy egyetlen HDL alkotóelem (mint a koleszterin tartalom) mérése nem elég ahhoz, hogy megbecsüljük a HDL kardioprotektív szerepét. A HDL-C szint kifejezheti ezen részecskék számát, de nem ad információt arról az alcsoportról, aminek a

legnagyobb mértékben van szerepe a kardiovaszkuláris betegségekkel szembeni védekezésben. Arra, hogy a magasabb HDL-C szint miért nem hatékony a szívkoszorúér-betegséggel szemben, még nem ismert pontos válasz, de számos lehetséges magyarázat létezik. A HDL igen heterogén részecskék sokaságából adódik össze, amelyek különböznek nagyság, töltés, alak, denzitás és összetétel (elsősorban fehérje összetétel) szerint. Ezek alapján különböző feladatokat is látnak el. Ezért a csupán HDL-C szint (a HDL koleszterin tartalom) mérés nem tűnik a HDL funkció legmegbízhatóbb prediktorának (Arsenault 2012, Navab 2011, Heinecke 2009). Ezen túlmenően számos kísérleti és klinikai adat felveti annak a lehetőségét, hogy a HDL részecske összetétele megváltozhat különböző betegségekben és terápiás beavatkozások hatására, amely nem biztos, hogy tükröződik a HDL-C szintben (Arsenault 2012, Navab 2011, Heinecke 2009, Riwanto 2013). Ennek lehetséges magyarázata, hogy a HDL-C szint ($>1\text{mmol/L}$) és az apoAI ($\approx 50\text{ umol/L}$), illetve a kisebb bioaktív komponensek szintje (PON1, clusterin 1 umol/L , S1P $0,5\text{ umol/L}$, apoLI $0,1\text{ umol/L}$) között jelentős aránybeli különbség van. A különböző betegségek során kialakuló, HDL-t alkotó komponensek szintjének változását éppen emiatt nem tükrözi a HDL-C szintje (Lüscher 2014). Mindezek alapján világosan látszik, hogy a jövőben olyan vizsgálatokra van szükség, amelyek a HDL szerkezete és működése közötti kapcsolatot vizsgálja, ezáltal pedig pontosabban mérhetnénk fel a kardiovaszkuláris kockázatot és a terápiás hatást, illetve ezek akár új terápiás lehetőségeket is nyújthatnak.

3. Célkitűzések

1. Vizsgálataink során célul tűztük ki, hogy tanulmányozzuk 3, 6 és 12 hónap alatt naponta 10 mg dózisban alkalmazott ezetimib monoterápia során a *NPC1L1* c.-133A>G polimorfizmus lipid szintekre kifejtett hatását statin intoleráns hyperlipidaemiás betegekben. Ez a polimorfizmus egy korábbi vizsgálatban szignifikánsan befolyásolta a statin lipidcsökkentő hatását (Polisecki 2010). Ezzel szemben az eddigi kutatások a *NPC1L1* gén SNP-k ezetimib monoterápiára adott válaszra kifejtett hatását még nem vizsgálták. Mindazonáltal a statin intolerancia a betegek jelentős részét érinti, és ilyen esetekben az ezetimib monoterápia alkalmazása elterjedt. Feltételeztük, hogy statin intoleráns hyperlipidaemiás betegekben a c.-133A>G polimorfizmus hatással lesz az ezetimib monoterápiára adott válaszra.
2. Vizsgálataink második felében célkitűzésünk volt a HDL-hez kapcsolódó két enzim, a PON1 aktivitás és az MPO szint, illetve az érlemezés folyamatában szerepet játszó két biomarker, az MMP-9 és a TIMP-1 szintjének vizsgálata és összehasonlítása vaszkuláris szövődménnyel rendelkező és nem rendelkező hyperlipidaemiás, lipidcsökkentővel nem kezelt túlsúlyos betegekben. Korábbi irodalmi adatok alapján jól ismert, hogy túlsúlyos és elhízott betegekben a PON1 aktivitása csökkent, ezzel szemben a MPO, a MMP-9 és a TIMP-1 szintje emelkedett (Ferretti 2005, Kosmala 2008, Tumova 2013), de kapcsolatuk és az érlemezésben betöltött szerepük még nem teljesen tisztázott. Feltételeztük, hogy a fenti paraméterek szorosan korrelálnak egymással. Mivel a lipidcsökkentő kezelés hatással van a MPO és a MMP-9 szintjére, illetve a PON1 aktivitására (Andreou 2010, Andrade 2013, Harangi 2009), vizsgálatunkba lipidcsökkentővel nem kezelt betegeket vontunk be.

4. Betegek és módszerek

4.1 Betegek kiválasztása

4.1.1. Statin intoleráns betegek kiválasztása

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

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

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

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

4.1.2. Túlsúlyos és elhízott, lipidcsökkentővel nem kezelt betegek kiválasztása

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

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

Minden betegnél felmértük a magasvérnyomás, a 2-es típusú cukorbetegség és a dohányzás fennállását. Magasvérnyomást a vérnyomáscsökkentő gyógyszerek szedése, ≥ 140 Hgmm szisztolés vagy ≥ 90 feletti diasztolés vérnyomás esetén diagnosztizáltunk. 2-es típusú cukorbetegséget a rendszeres vércukorszint-csökkentő gyógyszer szedése, illetve inzulin rendszeres alkalmazása vagy ≥ 7 mmol/L éhomi vércukor-szint esetén állapítottunk meg. A dohányzást korábbi (az elmúlt 10 évben legalább fél évig tartó) vagy jelenlegi rendszeres dohányzás alapján határoztuk meg. A betegeket két, nemben illesztett alcsoportra osztottuk a meglévő, illetve jelen nem lévő vaszkuláris szövődmények alapján (vaszkuláris szövődménnyel rendelkező [VSZ] és vaszkuláris szövődménnyel nem rendelkező betegek [NVSZ]). A vaszkuláris szövődményeket ismert iszkémiás szívbetegség (miokardiális infarktus vagy koronária szklerózis), iszkémiás cerebrovaszkuláris betegség (iszkémiás agyi infarktus, tranzienis iszkémiás attack vagy az artéria carotis sztenózis/eltáródása), illetve perifériás artériás betegség esetén diagnosztizáltuk. A vaszkuláris szövődményeket a beteg kórelőzménye vagy a képalkotó eljárások eredményei alapján határoztuk meg. A vaszkuláris szövődménnyel rendelkező csoportba soroltuk a már egyetlen szövődménnyel rendelkező betegeket is. Bevonáskor a betegeknek akut panaszuk nem volt. Kizárásra kerültek azok a

betegek, akik a bevonás előtt legalább 6 héttel vagy a bevonáskor lipidcsökkentő gyógyszert szedtek, autoimmun betegségben, krónikus gyulladásoos kórképben, aktív máj vagy endokrin betegségben, 1-es típusú cukorbetegségben, tumoros alapbetegségben vagy végstádiumú vesebetegségben szenvedtek. A vizsgálatot a Helsinki Deklaráció szerint végeztük, minden beteg a vizsgálatba való bevonás időpontjában a Debreceni Egyetem Etikai Bizottsága által jóváhagyott beegyező nyilatkozatot írt alá.

4.2. Vérvétel és laboratóriumi paraméterek mérése, statisztikai elemzés

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

A betegek bevonásakor, illetve 3, 6 és 12 hónapos ezetimib kezelés után, 12 órás éhezést követően reggel 07:30 és 08:00 óra között 10 ml vénás vér levétele történt. A lipid értékek meghatározása a Debreceni Egyetem Laboratóriumi Medicina Intézetében friss szérumból történt. A szérum koleszterin és triglicerid szintek meghatározását enzimatikus, kolorimetriás módszerrel (GPO-PAP, Modular P-800 Analyzer; Roche/Hitachi, Basel, Switzerland), míg a HDL-C és LDL-C értékek meghatározás homogén, enzimatikus, kolorimetriás próbával (Roche HDL-C plus 3rd generation, Roche LDL-C plus 2nd generation, Basel, Switzerland) végezték. Az apolipoprotein szintek meghatározása immunturbidimetriás módszerrel (Tina-Quant APO A (Version 2; Roche), Tina-Quant APO B (Version 2; Roche) történt. A kreatinin-kináz aktivitásának meghatározását UV kinetikus módszerrel (CK liquid), a Nemzetközi Klinikai Kémiai Szövetség (International Federation of Clinical Chemistry, IFCC) ajánlásának megfelelően Roche/Hitachi Modular P800 analizátoron, míg a magas-szenzitivitású C-reaktív protein (hsCRP) meghatározását ugyanazon a készüléken immunturbidimetriás módszer (CRPLX) segítségével végezték.

4.2.2. *NPC1L1* genotípus meghatározás

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

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

4.2.3. Statin intoleráns betegek eredményeinek statisztikai elemzése

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

és allélel rendelkező személyek paramétereinek összehasonlítása Khí-négyzet és Fisher-féle egzakt próbával történt.

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

A vénás vér levétele reggel 08:00 és 10:00 között, 12 órás éhezést követően történt. A szérum azonnal feldolgozásra került. A rutin laboratóriumi vizsgálatok (hsCRP, triglicerid, összkoleszterin, LDL-koleszterin, apoAI, apoB, lipoprotein (a) (Lp(a)), hemoglobin A1C (HbA1C), húgysav, ultraszenzitív pajzsmirigy stimuláló hormon (sTSH)) meghatározás Cobas c501 és e602 autoanalizátorral történt (Roche Ltd., Mannheim, Germany) a Debreceni Egyetem Laboratóriumi Medicina Intézetében. A szérum koleszterin, triglicerid, HDL-C, LDL-C, lipoprotein és hsCRP szintek a fentebb ismertetett módszerekkel kerültek meghatározásra. Az éhomi glükóz és húgysav értékét enzimatikus kolorimetriás módszerrel, a HbA1c értékét nagynyomású folyadékkromatográfiával, az sTSH értékét pedig elektrokemilumineszcenciás immunoassay-el határozták meg. A reagensek ugyanazon forgalmazótól származtak és a vizsgálatok a gyártó utasításainak megfelelően történtek. Az MPO, MMP-9, TIMP-1 és a PON1 paraoxonáz és arilészteráz vizsgálatok elvégzéséig a szérumot -70°C-on tároltuk, és a minták 2 hónapon belül felhasználásra kerültek.

4.2.5. Paraoxonáz-1 aktivitás mérése

A PON1 paraoxonáz aktivitás mérését egy kinetikus, szemiautomatizált módszerrel végeztük. 285 µl Tris-HCl-t (100 mmol/L, pH=8,0), 2 mmol/L CaCl₂-t tartalmazó pufferben, 5,5 mmol/L paraoxon (O,O-dietil-O-p-nitrofenilfoszfát, Sigma, Magyarország) feloldása, majd 15 µl szérum hozzáadása után 405 nm-en, 25°C-on spektrofotometriás módszerrel (Greiner Bio-One GmbH, Germany) 6 percenként történt a 4-nitrofenol mennyiségének mérése egy multimodális detektorral felszerelt Beckman Coulter DTX880 típusú leolvasó (Beckman

Coulter, California, USA) segítségével. Az enzim aktivitását a paraoxonáz által elbontott paraoxon szubsztrátra jellemző moláris extinkciós koefficiens ($17\,600\text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) alapján határoztuk meg. A paraoxonáz aktivitás kifejezésére U/L mértékegységet használtunk, ahol egy egység $1\ \mu\text{mol}$ szubsztrát elbomlását jelenti egy perc alatt (Fülöp 2014).

Az arilészteráz aktivitás meghatározására szintén spektrofotometriás módszert alkalmaztunk. 1 mmol/L fenilacetátot (Sigma) és 20 mmol/L Tris/HCl puffert ($\text{pH}=8,0$) tartalmazó oldatban, szérum hozzáadását követően 270 nm -en történt az abszorbancia mérése. A fenilacetát spontán hidrolízisének korrigálására szubsztrátvakot használtunk. Az enzimaktivitás $1310\text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ moláris extinkciós koefficiens segítségével került meghatározásra. Mértékegysége U/L volt, ahol egy egység $1\ \mu\text{mol}$ fenilacetát elbomlását jelenti egy perc alatt (Fülöp 2014).

A PON1 fenotípus meghatározására duál szubsztrát módszert alkalmaztunk (Smolen 1991). A $192\text{ Q}\rightarrow\text{R}$ kodon genetikai polimorfizmusának ($192.$ pozícióban Arg/Gln csere) van a legnagyobb hatása az enzim aktivitására. R allél esetén a paraoxon hidrolízise gyorsabb, mint Q allél esetén. Az R allél által meghatározott allozimet B, a Q allél által azonosítottat A típusúnak nevezzük. Ezzel ellentétben az R és Q allélek ugyanolyan arilészteráz aktivitással rendelkeznek. A só stimulálta (1 mol/l NaCl jelenlétében) paraoxon hidrolízisének és a fenilacetát hidrolízisének egymáshoz viszonyított aránya alapján az emberek három PON1 fenotípusba oszthatóak: AA (alacsony aktivitásúak), AB (közepes aktivitásúak), BB (magas aktivitásúak). A fenotípusok közötti határértékek a következők: $3,0$ alatti arány esetén AA, $3,0$ és $7,0$ között AB és $7,0$ feletti arány esetén BB fenotípusról beszélhetünk.

4.2.6. Enzim-kapcsolt immunszorbens vizsgálatok

Az MPO, MMP-9 és a TIMP-1 koncentráció szendvics enzim-kapcsolt immunszorbens vizsgálattal (ELISA) (R&D Systems Europe Ltd., Abingdon, England) került meghatározásra a gyártó ajánlásának megfelelően. A vizsgálaton belüli és a vizsgálatok közötti

szórástényezők a következők voltak: MPO 6,6-7,7% és 6,5-9,4%, MMP-9 1,9-2,9% és 6,9-7,9%, TIMP-1 3,9-5,0% és 3,9-4,9%.

4.2.7. Túlsúlyos és elhízott, lipidcsökkentővel nem kezelt betegek eredményeinek statisztikai elemzése

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

5. Eredmények

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

A vizsgált betegek antropometriai, illetve a kezelés előtti és utáni laboratóriumi paramétereit a 2. táblázatban, a releváns betegségeket és az általuk szedett gyógyszereket a 3. táblázatban foglaltam össze.

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

A vizsgált populációban a *NPC1L1* c.-133A>G genotípus eloszlás a következő: 57,42% volt az AA, 34,65% volt az AG és 7,92% volt a GG genotípus aránya (5. ábra). Mivel a GG betegek aránya alacsony volt, a vizsgált betegeket két csoportra osztottuk: AA (G-t nem hordozók) és AG+GG (G hordozók) alcsoportra.

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

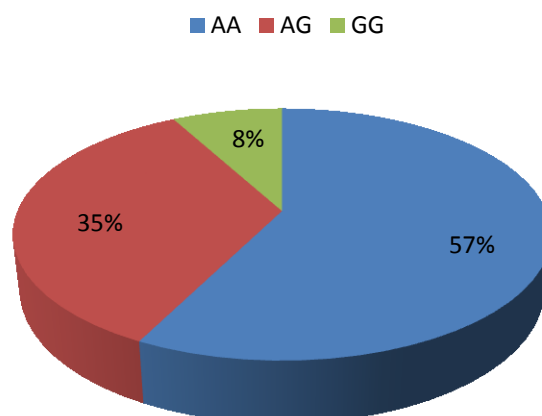
Életkor (évek)	61,23±9,87						
Nem (nő/férfi)	69/32						
BMI (kg/m ²)	28,18±4,29						
Haskőrfogat (cm)	98,54±11,74						
	kezelés előtt			kezelés után			
		3 hónap	változás (%)	6 hónap	változás (%)	12 hónap	változás (%)
Összkoleszterin (mmol/l)	7,46±1,42	6,79±1,46***	-9,67	6,72±1,32***	-7,9	6,48±1,39***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

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

3. táblázat: A vizsgált betegek releváns betegségei és az általuk szedett gyógyszerek

Releváns betegségek	Betegek száma
Iszkémiás szívbetegség	13
Hipertónia	73
2-es típusú cukorbetegség	16
Köszvény	10
Gasztroözfageális reflux betegség, gasztritisz	24
Benignus prosztata hiperplázia	2
Szedett gyógyszerek	
Protonpumpa gátló	24
Béta-blokkoló	51
Angiotenzin-konvertáló enzim gátló	44
Angiotenzin-receptor blokkoló	20
Kalciumcsatorna-blokkoló	23
Alfa-2-receptor agonista	5
Alfa-1 blokkoló	5
Aszpirin	35
Klopidogréll	3
Trimetazidin	10
Nitrát hatóanyagú gyógyszerek	11
Amiodaron	2
Indapamid	14
Hidroklorotiazid	17
Allopurinol	10
Szabalpálma-kivonat	2
Fibrát	2
Inzulin	3
Glimepirid	10
Metformin	10
Szitagliptin	1
Akarbóz	2

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



A különböző *NPC1L1* genotípusok antropometriai adatai és a kezelés előtti laboratóriumi paraméterei a 4. táblázatban láthatóak. A kezdeti lipid szintekben nem volt szignifikáns különbség az AA és az AG+GG betegcsoport között. Nem volt szignifikáns különbség az életkor, a BMI és a háskörfogat esetében sem a két csoport között.

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

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

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

A lipoprotein és apolipoprotein szintek %-ban kifejezett változását 3, 6 és 12 hónapos ezetimib kezelés során a különböző *NPC1L1* genotípus csoportok és az egész betegpopuláció esetében az 5. táblázatban foglaltam össze.

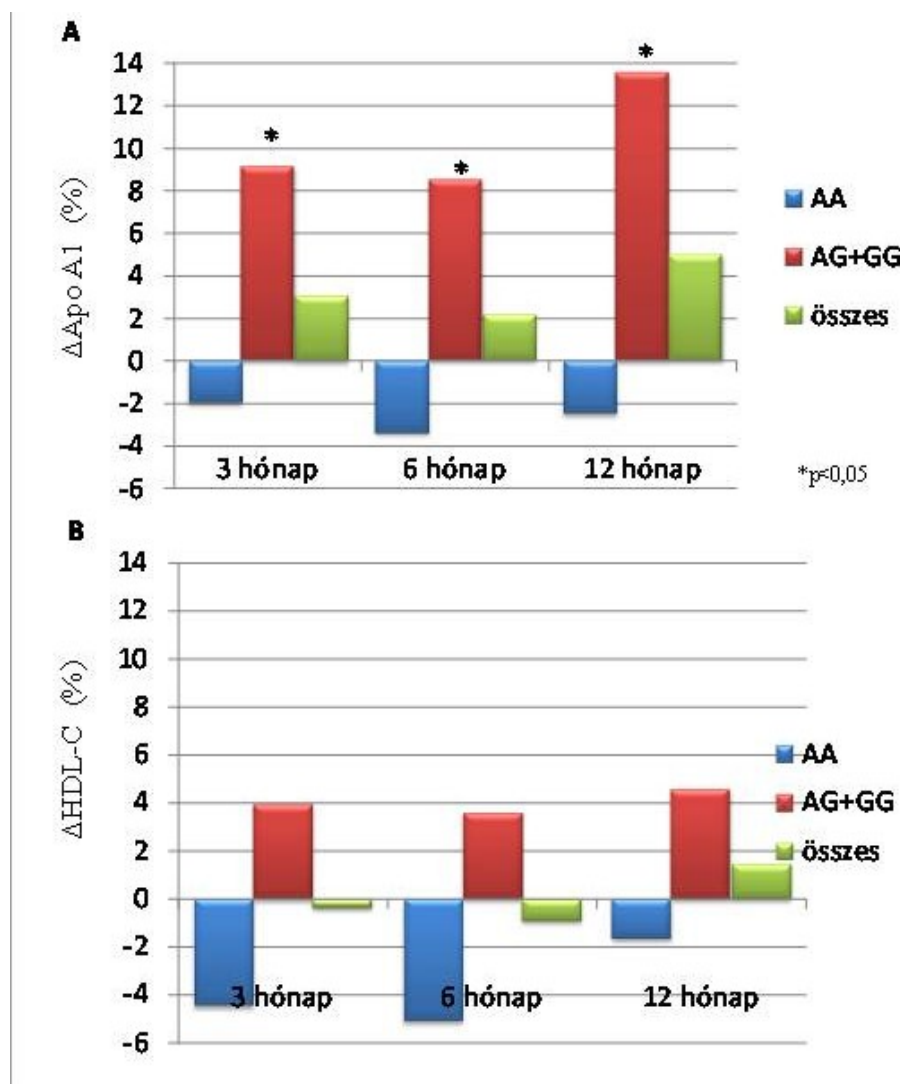
5. táblázat: A lipoprotein és apolipoprotein szintek %-ban kifejezett változása 3, 6 és 12 hónapos ezetimib kezelés során a különböző *NPC1L1* genotípus csoportok és az egész betegpopuláció esetében

	AA		AG+GG		összes beteg	
	Δ (%)	SD	Δ (%)	SD	Δ (%)	SD
Összkoleszterin						
3 hónap	-9,12	14,8 §	-10,27	13,4 §	-9,67	14,1
6 hónap	-7,21	20,9	-8,80	18,3	-7,9	19,7
12 hónap	-12,95	15,5 §	-10,06	17,5 §	-11,7	16,3
Triglicerid						
3 hónap	-8,15	36,8	-10,63	30,7	-9,93	33,8
6 hónap	-11,11	64,5	-15,84	30,12	-13,45	52,0
12 hónap	-19,47	60,2	-19,80	49,7	-19,47	55,6
LDL-C						
3 hónap	-9,29	18,7 §	-11,02	16,6 §	-10,15	17,6
6 hónap	-10,78	29,3	-9,96	21,5	-10,38	25,6
12 hónap	-5,94	32,8 §	-11,00	21,0 §	-8,52	27,2
HDL-C						
3 hónap	-4,45	12,6	3,94	21,4	-0,39	17,8
6 hónap	-5,09	24,8	3,58	23,2	-0,91	24,3
12 hónap	-1,67	22,9	4,57	30,6	1,45	26,9
ApoB						
3 hónap	-1,16	24,1	-4,44	14,6	-2,65	20,2
6 hónap	-9,12	15,8 §	-5,88	17,5	-7,61	16,5
12 hónap	-6,83	29,1 §	-6,38	16,6	-6,62	23,7
ApoA1						
3 hónap	-1,96	10,4	9,15	21,1 § χ	3,07	16,9
6 hónap	-3,39	15,1	8,54	22,6 § χ	2,18	19,7
12 hónap	-2,74	19,2	13,58	25,7 § χ	5,01	23,7

LDL-C = low-density lipoprotein-cholesterol (alacsony sűrűségű lipoprotein-koleszterin); HDL-C = high-density lipoprotein-cholesterol (nagy sűrűségű lipoprotein-koleszterin); ApoB = apolipoprotein B; ApoA1 = apolipoprotein A1; §: $p < 0,05$ a kiindulási értékekhez viszonyítva; χ : $p < 0,05$ az AA és AG+GG genotípus között

3, 6 és 12 hónapos ezetimib kezelés során a kiindulási értékekhez viszonyítva az AA betegcsoportban nem találtunk szignifikáns változást az apoAI szintben (-1,96; -3,39 és -2,74%), miközben az AG+GG betegcsoportban szignifikáns emelkedés igazolódott a kezelés során (9,15; 8,54 és 13,58%). A *NPC1L1* c.-133A>G hatása az ezetimib monoterápiára bekövetkező apoA1 válaszra szignifikáns volt ($p < 0,05$). A HDL-C szint változatlan maradt mindkét betegcsoportban, és a két csoport között sem találtunk szignifikáns különbséget (6. ábra).

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



Az ezetimib monoterápia során 3, 6 és 12 hónap után a két csoportot összehasonlítva nem találtunk szignifikáns különbséget a többi lipid paramétert illetően.

3 és 12 hónapos ezetimib kezelés után az LDL-C és az összkoleszterin szint szignifikánsan csökkent mind az AA, mind az AG+GG csoportban. 6 és 12 hónapos kezelés után az apoB szint szignifikánsan csökkent az AA csoportban.

Az ezetimib tolerálhatósága kitűnő volt. Egy beteg esetében sem volt szükség a gyógyszer szedésének felfüggesztésére mellékhatás miatt, mindösszesen egy beteg panaszkodott átmeneti, ezetimib indukálta fejfájásról. Az egy éves ezetimib kezelés alatt nem tapasztaltunk súlyos mellékhatást. A CK szintben sem volt szignifikáns változás a 12 hónapos kezelés során (2. táblázat).

5.2. A paraoxonáz-1 aktivitás, a mieloperoxidáz szint és más vaszkuláris biomarkerek közötti kapcsolat kezeletlen hyperlipidaemiás betegekben

A vizsgált résztvevők antropometrikus és anamnesztikus jellemzőit az 6. táblázatban foglaltam össze. A NVSZ alcsoporthoz képest a VSZ alcsoportba tartozó betegek életkora szignifikánsan magasabb volt. A BMI és a haskörfogat esetében nem volt szignifikáns különbség a két alcsoport között.

6. táblázat: Vaszkuláris szövődémmel rendelkező és azzal nem rendelkező túlsúlyos hiperlipidémiás betegek antropometrikus és anamnesztikus jellemzői. VSZ - Vaszkuláris szövődémmel rendelkező betegek NVSZ - Vaszkuláris szövődémmel nem rendelkező betegek

Paraméterek	Összes beteg	VSZ	NVSZ	p
Betegek száma	167	41	126	
Életkor (évek)	50,0(41-61)	60,49±10,05	46,93±12,40	<0,001
Nő/férfi	89/78	22/19	67/59	
BMI (kg/m²)	28,49±5,56	29,34±3,94	28,18±6,00	n.s.
Haskőrfogat (cm)	96,04±14,60	100,07±10,15	94,35±15,42	n.s.
2-es típusú diabetes mellitus (n)	17 (10,18%)	6 (14,63%)	11 (8,73%)	<0,01
Magasvérnyomás (n)	59 (35,33%)	34 (82,93%)	25 (19,84%)	<0,001
Dohányzás (n)	57 (34,13%)	26 (63,41%)	31 (24,60%)	<0,001
Iszkémiás szívbetegség (n)	21 (12,57%)	21 (51,22%)	0 (0%)	<0,001
Iszkémiás cerebrovaszkuláris betegség (n)	25 (14,97%)	25 (60,98%)	0 (0%)	<0,001
Perifériás artériás betegség (n)	7 (4,19%)	7 (17,07%)	0 (0%)	<0,001

p: VSZ vs. NVSZ betegek, n.s. – nem szignifikáns

7. táblázat: A betegek laboratóriumi paramétereit és a vizsgált biomarkerek szintje. Az értékek átlag \pm SD és median (kvartilisek) formájában kerültek ábrázolásra. p: VSZ vs. NVSZ betegek, n.s. – nem szignifikáns, VSZ - Vaszkuláris szövődménnyel rendelkező betegek NVSZ - Vaszkuláris szövődménnyel nem rendelkező betegek

Paraméterek	Összes beteg (n=167)	VSZ (n=41)	NVSZ (n=126)	p
Éhomi vércukor (mmol/l)	5,43 \pm 1,42	5,50 \pm 0,78	5,39 \pm 1,58	n.s.
HbA1C (%)	5,85 \pm 1,35	5,93 \pm 0,91	5,82 \pm 1,42	n.s.
Össz koleszterin (mmol/l)	7,09 \pm 1,89	7,79 \pm 2,64	6,84 \pm 1,50	<0,01
LDL-C (mmol/l)	4,47 \pm 1,33	4,85 \pm 1,57	4,33 \pm 1,22	<0,05
HDL-C (mmol/l)	1,50 \pm 0,53	1,38 \pm 0,54	1,54 \pm 0,52	n.s.
Triglicerid (mmol/l)	1,8(1,15-3,10)	2,3(1,4-4,8)	1,6(1,10-2,80)	<0,05
Lp(a) (mg/l)	162,5(80-476)	240,5(102-436,5)	125(80-506)	n.s.
ApoAI (g/l)	1,64 \pm 0,47	1,55 \pm 0,29	1,67 \pm 0,51	n.s.
ApoB (g/l)	1,3 \pm 0,34	1,36 \pm 0,39	1,28 \pm 0,32	n.s.
hsCRP (mg/l)	2,4(1,3-5,5)	3,3(1,8-6,2)	2,2(1,20-5,30)	n.s.
Húgysav (μ mol/l)	319(247-389)	361(318-392)	301(237-373)	<0,01
sTSH (mU/l)	1,7(1,1-2,64)	1,65(0,93-2,54)	1,7(1,14-2,85)	n.s.
PON1 paraoxonáz aktivitás (U/l)	89,9(58,71-191,79)	93,01(65,85-211,06)	88,2(57,07-180,43)	n.s.
PON1 arilészteráz aktivitás (U/l)	128,4(107,24-159,81)	127,45(102,0-150,88)	129,4(107,48-161,44)	n.s.
Mieloperoxidáz (mg/ml)	399,8(195,1-846,7)	728(367,25-1177,90)	315,9(176,05-687,40)	<0,001
MMP-9 (ng/ml)	504,1(337,3-713,1)	502,10(321,9-751,1)	505,4(340,20-706,0)	n.s.
TIMP-1 (ng/ml)	160,5(137,1-178,7)	172,7(157,7-197,7)	152,6(129,3-172,3)	<0,0001
MMP-9/TIMP-1	3,37(2,17-4,88)	3,02(1,95-4,22)	3,50(2,34-5,20)	<0,0001

A laboratóriumi paramétereket és a vizsgált biomarkerek szintjét a 7. táblázatban ábrázoltam.

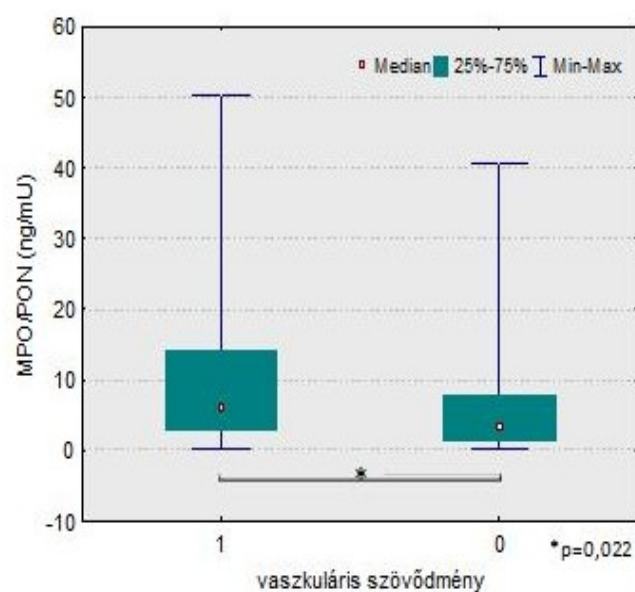
Nem volt szignifikáns különbség az éhomi vércukorszint és a HbA1C szintekben a két

alcsoporthoz képest. A VSZ alcsoporthoz képest esetében atheroszterogén lipid profilt találtunk: szignifikánsan magasabb volt az összkoleszterin, az LDL-C és a triglicerid szintje. A HDL-C, az apoAI, az apoB és a Lp(a) szintek esetében nem találtunk szignifikáns különbséget a két alcsoporthoz képest. Nem volt szignifikáns különbség a hsCRP szintekben sem.

Vizsgáltuk a PON1 Q192R fenotípus eloszlást és allél frekvencia gyakoriságot is. Az egész betegcsoportot tekintve a PON1 fenotípus eloszlás a következő: 80% (n=134) volt az AA, 20% (n=33) volt az AB fenotípus aránya, és nem volt BB fenotípusú beteg. A fenotípus megoszlás (AA-AB) 83% (n=104) - 17% (n=22) volt a NVSZ alcsoporthoz képest és 73% (n=30) - 27% (n=11) volt a VSZ alcsoporthoz képest. Az allél frekvenciák relatív gyakorisága követte a Hardy-Weinberg szabályt és nem volt szignifikáns különbség a két alcsoporthoz képest.

Nem volt szignifikáns különbség az MMP-9 szintekben a két vizsgált alcsoporthoz képest, míg az MPO és a TIMP-1 szintje szignifikánsan magasabb volt, illetve az MMP-9/TIMP-1 arány szignifikánsan alacsonyabb volt a VSZ alcsoporthoz képest a NVSZ alcsoporthoz képest (7. táblázat).

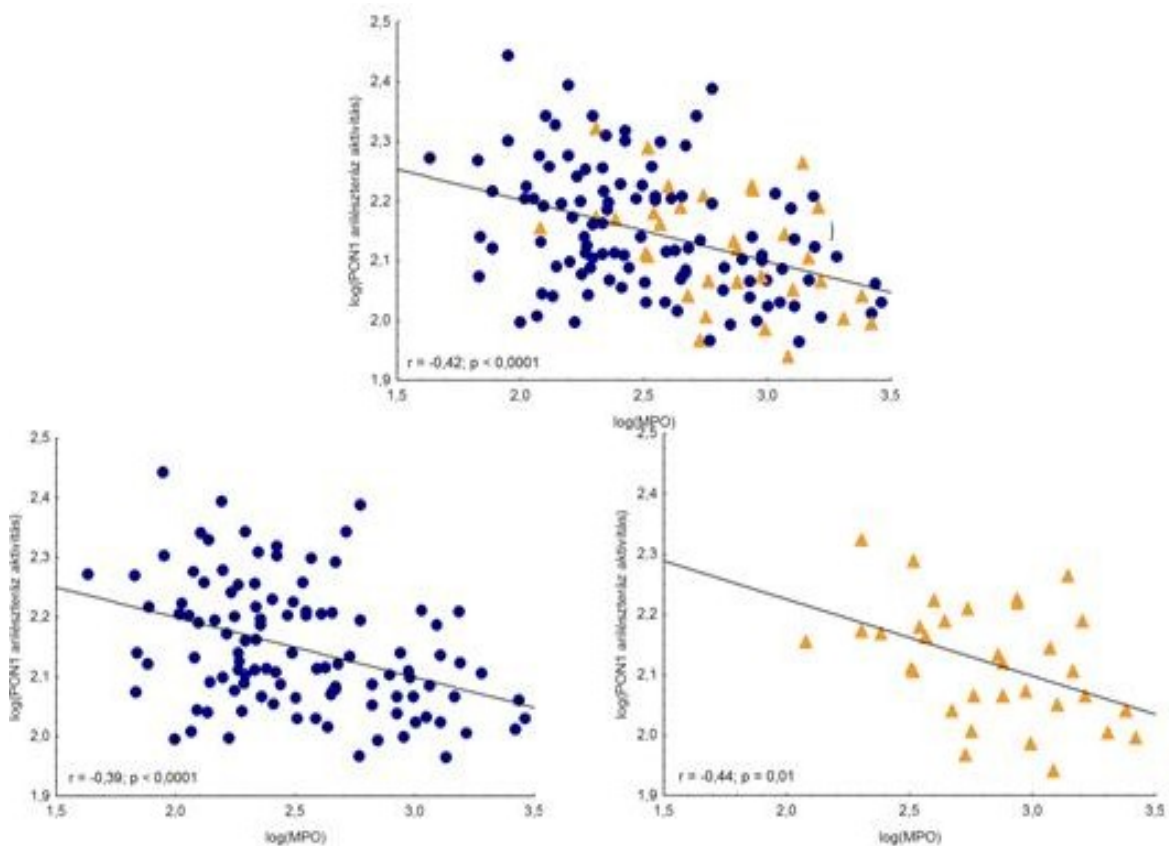
7. ábra: Az MPO/PON1 arány a vaszkuláris szövődménnyel rendelkező (1) és azzal nem rendelkező csoportban (0)



A két alcsoport között nem találtunk szignifikáns különbséget a PON1 aktivitásban (7. táblázat), ezzel szemben az MPO/PON1 arány szignifikánsan magasabb volt a vaszkuláris szövődémmel rendelkező betegek esetében, mint az azzal nem rendelkező csoportban (7. ábra).

Az MPO szint szignifikáns negatív korrelációt mutatott a PON1 arilészteráz aktivitással mind a teljes betegcsoportot (8.A ábra), mind pedig a két alcsoportot külön vizsgálva (8.B ábra; 8.C ábra).

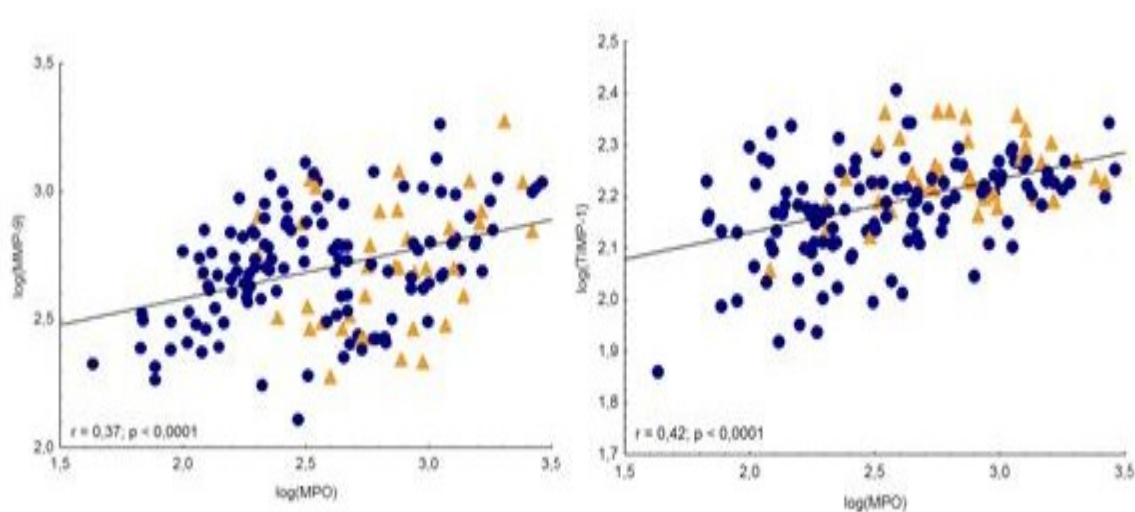
8. ábra: Pearson-féle korreláció az MPO szint és a PON1 arilészteráz aktivitás között az egész betegcsoportot vizsgálva (A; $r=-0,42$, $p<0,0001$), a NVSZ betegekben (B; $r=-0,39$, $p<0,0001$) és a VSZ betegekben (C; $r=-0,44$, $p=0,01$). Az MPO szintek és a PON1 arilészteráz aktivitás logaritmizált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



Az MPO szint és a PON1 paraoxonáz aktivitás közötti összefüggést vizsgálva nem találtunk szignifikáns kapcsolatot az egyes betegcsoportokban.

Az MPO szint szignifikáns pozitív korrelációt mutatott az MMP-9 szinttel mind az egész betegcsoportban (9.A ábra), mind a NVSZ alcsoportban ($r=0,42$, $p<0,0001$). Habár nem érte el a szignifikancia szintjét, feltételezhetően az alcsoportokban található alacsonyabb betegszám miatt, az MPO szint pozitív korrelációs tendenciát mutatott az MMP-9 szintjével a VSZ alcsoportban ($r=0,29$, $p=0,07$). Az MPO és a TIMP-1 szintek szignifikáns pozitív korrelációt mutattak mind az egész betegcsoportban (9.B ábra), mind pedig a két alcsoportban (NVSZ: $r=0,41$, $p<0,0001$; VSZ: $r=0,33$, $p<0,05$). A PON1 arilészteráz aktivitás is szignifikáns negatív korrelációt mutatott a TIMP-1 szinttel mind az egész betegcsoportban ($r=-0,24$, $p<0,01$), mind a NVSZ alcsoportban ($r=-0,26$, $p<0,01$).

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



Vizsgálataink további részében többszörös regressziós analízist alkalmaztunk, mely során az MPO szintet választottuk függő változónak. A PON1 aktivitás, az MMP-9 és a TIMP-1 szint az MPO szint független prediktorának bizonyult (8. táblázat) mind az egész betegcsoportban, mind a NVSZ alcsoportban. Ezzel szemben a VSZ alcsoportban csak a PON1 arilészteráz aktivitás igazolódott az MPO szint független előrejelzőjének.

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

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

6. Megbeszélés

Vizsgálatunk első felében statin intoleráns, hyperlipidaemiás betegekben ezetimib monoterápia során vizsgáltuk a *NPC1L1* c.-133A>G SNP lipid paraméterekre, azon belül az apoAI-et tartalmazó HDL-C-re kifejtett hatását. A nemzetközi irodalom áttekintése során a korábbi tanulmányok az ezetimib különböző mértékű HDL-C szint-emelő hatásáról számoltak be. Míg egyes kutatók szignifikáns HDL-C emelkedést tapasztaltak az ezetimib kezelés során (Dujovne 2002), addig egy egészséges emberek körében végzett vizsgálat során nem igazolódott szignifikáns különbség a HDL-C szintben a placebo csoport és az ezetimib monoterápiában részesülő csoport adatainak összehasonlításakor (Berneis 2010). Mindemellett a *NPC1L1* polimorfizmusok hatását a HDL-C válaszra ezetimib monoterápia során még nem vizsgálták.

Kutatásunk során nem találtunk szignifikáns különbséget az ezetimib kezelés során kialakult HDL-C válaszban a *NPC1L1* c.-133 AA és AG+GG betegek között. Ezzel szemben 3,6 és 12 hónapos ezetimib kezelés során az apoAI szint szignifikáns emelkedett az AG+GG betegekben, miközben az AA betegcsoportban nem csökkent szignifikánsan. Ezen eredmények alapján munkacsoportunk számolt be először arról, hogy a *NPC1L1* c.-133A>G SNP befolyásolja az ezetimib monoterápiára adott apoAI választ, ezáltal befolyásolhatja az ezetimib HDL részecskék szerkezetére és funkciójára kifejtett hatását.

Vizsgálatunk során meg tudtuk erősíteni, hogy az ezetimib monoterápia javítja a lipid paraméterek szintjét statin intoleráns hyperlipidaemiás betegekben. Egy éves kezelést követően az ezetimib monoterápia szignifikánsan csökkentette az összkoleszterin (-11,70%), az LDL-C (-8,52%) és a triglicerid szinteket (-3,70%). A HDL-C szint nem emelkedett szignifikánsan (1,45%). Egy korábbi meta-analízis során az ezetimib monoterápia a placebo csoporthoz képest az LDL-C szintet -18,58%-kal csökkentette, míg az összkoleszterin és a triglicerid szinteket -13,46%-kal, illetve -8,06%-kal csökkentette. A HDL-C szint 3%-kal

szignifikánsan nőtt (Pandor 2009). A vizsgálatunk során tapasztalt, az ezetimib által a lipid paraméterekre kifejtett mérsékeltebb hatás részben az általunk vizsgált betegpopulációval magyarázható. Más vizsgálatokban az ezetimib hatását különböző lipoprotein rendellenességgel rendelkező betegek (például 2-es típusú cukorbetegség, kevert hyperlipidaemia) körében vizsgálták, míg mi egy sajátos, statin-intoleráns hyperlipidaemiás betegcsoportot vontunk be a vizsgálatba. Ezenkívül feltételezhetően az általunk vizsgált betegpopuláció Apolipoprotein E allélmegoszlása is különbözhetett a korábban vizsgált betegcsoportok megoszlásától. Az apoE gén 3 különböző alléljének terméke eltérő mértékben képes kötődni az apoE- és az LDL-receptorhoz, ezáltal az apoE polimorfizmus módosítja a máj receptor-mediálta szterin-felvételét, a máj koleszterin szintézisét és az LDL-receptor expressziót, illetve az intesztinális koleszterin felszívódás arányát (Harangi 2013b). Mivel az allélek megoszlása különböző lehet az egyes populációkban, ez hatással lehet az ezetimib hatékonyságára is.

Korábbi tanulmányokban az ezetimib monoterápia csökkentette a hsCRP szintjét a placebohoz képest, de ezek a különbségek többnyire nem voltak statisztikailag szignifikánsak (Pearson 2007). Az egész betegcsoportot vizsgálva 3 és 6 hónapos ezetimib terápia során szignifikánsan csökkent a hsCRP szint, míg ez a különbség 12 hónap elteltével már nem volt szignifikáns. A vizsgált *NPC1L1* polimorfizmus nem változtatta meg szignifikánsan az ezetimib hsCRP szintre gyakorolt hatását.

Kevés adat áll rendelkezésre a *NPC1L1* c.-133A>G SNP genotípus eloszlásával kapcsolatban. Az általunk vizsgált betegek genotípus eloszlása hasonló volt, mint az irodalomban szereplő, 271 hyperlipidaemiás és 272 kontroll bevonásával végzett vizsgálatban szereplő betegeké. Ebben a kutatásban az autoszómális domináns hyperlipidaemiás csoportban az AA allélt hordozók aránya 48%, az AG és GG allélt hordozók aránya pedig 46% és 6% volt. Míg a

kontroll csoportban a genotípus eloszlás a következő: 58% volt az AA, 35% volt az AG és 7% volt a GG genotípusúak aránya (Martin 2010).

Jól ismert, hogy az ezetimib koleszterin-csökkentő hatásának maximuma 2 hetes kezelés után alakul ki, és a hatás mértéke ezt követően lényegesen nem változik (Bays 2001). Valószínűleg éppen emiatt a legtöbb vizsgálat csupán 12 hétig vizsgálta az ezetimib hatékonyságát. Habár ezen rövid távú vizsgálatok (12 hét) során úgy tűnik, hogy az ezetimib monoterápia a placebohoz hasonló biztonsági profillal rendelkezik, az ezetimib monoterápia hosszú távú alkalmazásának biztonságosságáról korlátozott információ áll rendelkezésre (Pandor 2009). Vizsgálatunk során az egyéves ezetimib kezelés során a betegek a gyógyszert jól tolerálták. Egy beteg esetében sem volt szükség a gyógyszer szedésének felfüggesztésére mellékhatás miatt. Az egyéves ezetimib kezelés alatt nem tapasztaltunk súlyos mellékhatást, illetve a CK szintben sem volt szignifikáns változás.

Vizsgálataink második felében lipidcsökkentővel nem kezelt, túlsúlyos, hyperlipidaemiás betegekben vizsgáltuk a HDL-hez kapcsolódó két enzim, a PON1 aktivitás és az MPO, illetve két, az érrelmeszesedés folyamatában szerepet játszó biomarker (MMP-9 és TIMP-1) kapcsolatát. Jól ismert a szoros kapcsolat az MPO - MMP-9 - TIMP-1 szintek, és az MPO szint - PON1 aktivitás között, illetve hogy a krónikus gyulladás az érrelmeszesedés, az elhízás és a kardiovaszkuláris betegségek jellemzője (Galis 1994, Mittal 2014, Cavusoglu 2006), de az ezek közötti összefüggés még nem teljesen tisztázott. Az irodalomban ez az első vizsgálat, melyben a PON1 aktivitást, az MPO, az MMP-9 és a TIMP-1 szinteket párhuzamosan vizsgáltuk.

Vizsgálatunkban a vaszkuláris szövődémmel rendelkező betegeknél szignifikánsan magasabb MPO szint igazolódott, mint a vaszkuláris szövődémmel nem rendelkezők körében, ami arra utal, hogy ezekben a betegeknél fokozottabb az oxidatív stressz és atherogén állapot áll fenn.

Elsőként mutattuk ki, hogy szignifikáns pozitív összefüggés van az MPO és az MMP-9 szintek, illetve az MPO és a TIMP-1 szintek között kezeletlen, túlsúlyos hyperlipidaemiás betegekben. Ezek a korrelációk a vaszkuláris szövődménnyel rendelkezők és az azzal nem rendelkezők között is igazolódtak. Habár a vaszkuláris szövődménnyel nem rendelkező betegek esetében nem lehetett kimutatni az érlemeszesedés jeleit, de feltételezzük, hogy egy korai aszimptomatikus érlemeszesedés már kialakult bennük az elhízáshoz társuló alacsony fokú krónikus gyulladás miatt, de ezt a korai érlemeszesedési folyamatot a fiatalabb életkoruk miatt az általunk elvégzett vizsgálatok segítségével még nem lehetett diagnosztizálni.

A 2-es típusú cukorbeteg és koszorúér-betegségben szenvedők körében végzett tanulmányok eredményeivel megegyezően, kezeletlen hyperlipidaemiás betegeinkben az MPO szint szignifikáns negatív korrelációt mutatott a PON1 arilészteráz aktivitással mind az egész betegcsoportban, mind pedig a két vizsgált alcsoportban (Jornayvaz 2009, Yunoki 2013). Többszörös regressziós analízissel pedig a PON1 arilészteráz aktivitás az MPO szint független előrejelzőjének bizonyult mind az egész betegcsoportban, mind a két alcsoportban. Eredményeink összhangban állnak Huang és munkatársai in vitro eredményeivel (Huang 2013), melyek azt mutatják, hogy az MPO és a PON1 kölcsönös gátló hatást fejt ki egymásra. Betegeink körében az MPO/PON1 arány szignifikánsan nagyobb volt a vaszkuláris szövődménnyel rendelkező betegek esetében, mint a szövődménnyel nem rendelkezők körében, ezáltal ennek a paraméternek a vizsgálata összefüggésbe volt hozható az érlemeszesedés súlyosságával. Adataink összhangban vannak egy 2014-ben publikált tanulmány eredményeivel, mely ezen túlmenően felvetette annak a lehetőségét is, hogy az MPO/PON1 arány a diszfunkcionális HDL egyik lehetséges mutatója, ezáltal a koszorúérbetegség szekunder prevenciójának hasznos markere lehet (Haraguchi 2014).

Vizsgálatunk során nem találtunk szignifikáns korrelációt a PON1 paraoxonáz aktivitás és az MPO szint között, aminek háttérében a paraoxonáz aktivitás magas inter-individuális variabilitása állhatott. Nem találtunk szignifikáns különbséget a PON1 aktivitásban (arilészteráz és paraoxonáz) a két alcsoport összehasonlításakor sem.

Igazolódott, hogy a PON1 arilészteráz aktivitás, az MMP-9 és a TIMP-1 szintek az MPO szint szignifikáns prediktorai mind az egész betegcsoportban, mind a NVSZ alcsoportban. Ezen belül a PON1 és az MPO közötti kapcsolat bizonyult a legerősebbnek, mivel csupán a PON1 arilészteráz aktivitás volt az MPO szint független prediktora a vaszkuláris szövődémmennyel rendelkező csoportban. A túlsúlyos, hyperlipidaemiás betegeinkben talált kapcsolatok halmozódó és szinergikus atherogen hatásokra utalnak, amelyben az oxidatív stressz direkt fokozásán és az anti-atherogenikus hatású PON1 funkciójának károsításán keresztül az MPO emelkedett szintje hozzájárul a vaszkuláris események kialakulásához. Az MPO és az MMP-9, illetve az MPO és a TIMP-1 közötti szignifikáns korreláción kívül a PON1 arilészteráz aktivitás szignifikáns negatív korrelációt mutatott a TIMP-1 szinttel is, ami arra utalhat, hogy a gyulladásos faktorok az enzim inaktivációja révén befolyásolhatják a PON1 aktivitást.

Kapott eredményeink megerősítik, hogy az MPO és a PON1 a HDL-lel együtt egy komplex rendszert képez, ezáltal a HDL és a hozzá kapcsolódó biomarkerek (PON1 és MPO) együttes vizsgálata a diszfunkcionális HDL jelenlétének egyik lehetséges markere lehet, és ezek párhuzamos vizsgálata, kiegészítve más - az atheroszklerózisban szerepet játszó - markerrel, az érlemezés súlyosságának pontosabb indikátorai lehetnek túlsúlyos betegek esetében. E paraméterek együttes meghatározása hasznos lehet a magas kardiovaszkuláris kockázatú betegek azonosításában, ami hozzájárulhat a korai, hatékony kezeléshez, továbbá elősegítheti a kezelés hatékonyságának nyomon követését.

7. Összefoglalás

Az utóbbi években számos kutatás számolt be a HDL kiemelkedő antiatherogén hatásáról. Egyre több a bizonyíték, hogy egyetlen HDL alkotóelem (mint a koleszterin tartalom) mérése nem elég ahhoz, hogy megbecsüljük a HDL kardioprotektív szerepét. Mindezek alapján világosan látszik, hogy a jövőben olyan vizsgálatokra van szükség, amelyek a HDL szerkezete és működése közötti kapcsolatot vizsgálják. Mint szervezetünk szinte minden részecskéjével kapcsolatban, a HDL-lel kapcsolatosan is, számos olyan gént azonosítottak, ami hatással van – egy úgynevezett endogén módon - annak szintjére és szerkezetére. Ezen túlmenően a HDL működését a hozzá kapcsolódó, azzal funkcionális egységet alkotó enzimek/molekulák is – exogén módon – befolyásolhatják. Munkánk célja volt, hogy vizsgáljuk ezetimib monoterápia során a *NPC1L1* c.-133A >G polimorfizmus lipid szintekre kifejtett hatását statin intoleráns hyperlipidaemiás betegekben. Továbbá vizsgáltuk a HDL-hez kapcsolódó két enzim, a PON1 aktivitás és az MPO szint, illetve az érlelmeszesedés folyamatában szerepet játszó két biomarker, az MMP-9 és a TIMP-1 szintjét vaszkuláris szövődémmel rendelkező és azzal nem rendelkező hiperlipidaemiás, lipidcsökkentővel nem kezelt túlsúlyos betegekben.

Ezetimib monoterápia során a HDL-C szintben nem volt szignifikáns változás sem az AA, sem az AG+GG betegcsoportban, és a két csoportot összehasonlítva sem találtunk szignifikáns különbséget. Miközben az apoA1 szintet vizsgálva a 3, 6 és 12 hónapos ezetimib kezelés során az AA betegcsoportban sem találtunk szignifikáns változást, ezzel szemben az AG+GG betegcsoportban egy szignifikáns emelkedés igazolódott. Így a *NPC1L1* c.-133A >G hatása az ezetimib monoterápiára bekövetkező apoA1 válaszra szignifikáns volt ($p < 0,05$).

Lipidcsökkentővel nem kezelt, túlsúlyos betegeinket vizsgálva nem találtunk szignifikáns különbséget a vaszkuláris szövődémmel rendelkező és azzal nem rendelkező csoport HDL-C szintje között. A biomarkereket vizsgálva az MPO szint szignifikáns negatív korrelációt

mutatott a PON1 arilészteráz aktivitással mind a teljes betegcsoportot, mind pedig a két alcsoportot külön vizsgálva, miközben szignifikáns pozitív összefüggés igazolódott az MPO és az MMP-9 szintek, illetve az MPO és a TIMP-1 szintek között. Az MPO/PON1 arány szignifikánsan nagyobb volt a vaszkuláris szövődményel rendelkezők esetében, mint a szövődménnyel nem rendelkező betegek körében. Többszörös regressziós analízis során pedig a PON1 aktivitás, az MMP-9 és a TIMP-1 szint is az MPO szint független prediktorának bizonyult, ezen belül a PON1 és az MPO közötti kapcsolat bizonyult a legerősebbnek.

Vizsgálataink során ezetimib monoterápia hatására a HDL-C szintjében nem találtunk szignifikáns változást. Ennek ellenére a *NPC1L1* c.-133A>G SNP befolyásolta az ezetimib monoterápiára adott apoAI választ, ezáltal – endogén módon - befolyásolhatta az ezetimib HDL részecskék szerkezetére és funkciójára kifejtett hatását. E mellett - a HDL funkciójának módosításán keresztül - a HDL-hez kapcsolódó PON1 és MPO együttes vizsgálata érzékenyebb markere volt az érlemezésedés súlyosságának, és felmerül annak a lehetősége is, hogy a diszfunkcionális HDL egyik lehetséges mutatója lehet. Eredményeink így alátámasztják, hogy a HDL minőségét befolyásoló tényezők vizsgálata segíthet a HDL kardioprotektív szerepének becslésében, ezáltal fontosabb szerepet tölthet be, mint a csupán HDL-C mennyiség mérése.

8. Summary

Recently, several researches demonstrated the significant antiatherosclerotic effect of HDL. There are growing amount of evidence that the measurement of single HDL factor (cholesterol content) is not enough to estimate the cardioprotective role of HDL. On the basis of these results it is obvious that examinations dealing with the association between the structure and function of HDL are needed. Numerous genes associated with HDL have a so-called endogenous effect on the level and structure of HDL. Furthermore, enzymes/molecules which form a functional complex with HDL can affect exogenously the function of HDL as well.

First, we aimed to examine the effect of SNP c.-133A >G at the *NPC1L1* gene on lipid levels and on the efficacy of 3, 6 and 12 months of 10 mg daily ezetimibe monotherapy in hyperlipidemic patients. Furthermore, we also examined PON1 activities, MPO concentration and the level of two biomarkers involved in the atherosclerotic process, MMP-9 and TIMP-1, in overweight hyperlipidemic, lipid-lowering therapy-naive patients with and without vascular complications.

In patients with ezetimibe monotherapy HDL-C levels remained unchanged in both AA and AG+GG group, and there was no significant difference between the two groups. Interestingly, plasma levels of apoA1 did not change significantly after 3, 6 and 12 months of ezetimibe treatment in AA patients. However, significant elevation in ApoA1 levels has been found after treatment in AG+GG patients. The effect of *NPC1L1* c.-133A >G on the efficacy of ezetimibe treatment on ApoA1 level was significant ($p < 0.05$). In our overweight hyperlipidemic, lipid-lowering therapy-naive patients there was no significant difference in HDL-C levels between patients with and without vascular complaints. MPO level showed a significant negative univariate correlation with PON1 arylesterase activity in the whole patient group as well as in both subgroups, while MPO concentration showed a significant

positive univariate correlation with MMP-9 and TIMP-1 levels as well. MPO/PON1 ratio was significantly higher in patients with vascular complications than in patients without any complications. We performed multiple regression analysis and PON1 arylesterase activity, MMP-9 and TIMP-1 levels were proven to be independent predictors of MPO levels, moreover, the correlation between MPO and PON1 seems to be the strongest one.

In our studies we did not find significant differences in HDL-C levels. However, *NPC1L1* c.-133A >G SNP influenced the ApoA1 response to ezetimibe monotherapy, therefore, might alter endogenously the effect of ezetimibe on the structure and function of the HDL particles. Moreover, parallel investigation of HDL and its related biomarkers, PON1 and MPO, by modification of HDL function, was a more accurate indicator of the severity of atherosclerosis in overweight patients, and it might be a possible indicator for dysfunctional HDL. Our results confirm that the examination of factors affecting the quality of HDL can assist the estimation of the cardioprotective role of HDL and therefore may be more important than the measurement of HDL-C level alone.

9. Irodalomjegyzék

Abbott CA, Mackness MI, Kumar S, Boulton AJ, Durrington PN. Serum paraoxonase activity, concentration, and phenotype distribution in diabetes mellitus and its relationship to serum lipids and lipoproteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1995; 15(11): 1812–1818.

Adkins S, Gan KN, Mody M, La Du BN. Molecular basis for the polymorphic forms of human serum paraoxonase/arylesterase: glutamine or arginine at position 191, for the respective A or B allozymes. *Am J Hum Genet.* 1993; 52(3): 598-608.

Ahmed Z, Babaei S, Maguire GF, Draganov D, Kuksis A, La Du BN, et al. Paraoxonase-1 reduces monocyte chemotaxis and adhesion to endothelial cells due to oxidation of palmitoyl, linoleoyl glycerophosphorylcholine. *Cardiovasc Res.* 2003; 57(1): 225-31.

AIM-HIGH Investigators, Boden WE, Probstfield JL, Anderson T, Chaitman BR, Desvignes-Nickens P, et al. Niacin in patients with low HDL cholesterol levels receiving intensive statin therapy. *N Engl J Med.* 2011; 365(24): 2255-2267. doi: 10.1056/NEJMoa1107579.

Alaupovic P, Hodis HN, Knight Gibson C, Mack WJ, LaBree L, Cashin Hemphill L, et al. Effects of lovastatin on ApoA- and ApoB-containing lipoproteins families in a subpopulation of patients participating in the monitored atherosclerosis regression study (MARS). *Arterioscler Thromb.* 1994; 14: 1906–1913.

Altmann SW, Davis HR Jr, Zhu LJ, Yao X, Hoos LM, Tetzloff G, et al. Niemann-PickC1Like 1 protein is critical for intestinal cholesterol absorption. *Science.* 2004; 303: 1201–1204.

Amar MJ, D'Souza W, Turner S, Demosky S, Sviridov D, Stonik J, et al. 5A apolipoprotein mimetic peptide promotes cholesterol efflux and reduces atherosclerosis in mice. *J Pharmacol Exp Ther.* 2010; 334(2): 634-641. doi: 10.1124/jpet.110.167890.

Andrade VL, do Valle IB, Sandrim VC. Simvastatin therapy decreases MMP-9 levels in obese women. *J Clin Pharmacol.* 2013; 53: 1072-1077.

Andreou I, Tousoulis D, Miliou A, Tentolouris C, Zisimos K, Gounari Pet al. Effects of rosuvastatin on myeloperoxidase levels in patients with chronic heart failure: a randomized placebo-controlled study. *Atherosclerosis.* 2010; 210: 194-198.

Annema W, Tietge UJ. Regulation of reverse cholesterol transport - a comprehensive appraisal of available animal studies. *Nutr Metab.* 2012; 9(1): 25.

Annema W, von Eckardstein A. High-density lipoproteins. Multifunctional but vulnerable protections from atherosclerosis. *Circ J.* 2013; 77(10): 2432-2448.

Ansell BJ, Navab M, Hama S, Kamranpour N, Fonarow G, Hough G, et al. Inflammatory/antiinflammatory properties of high-density lipoprotein distinguish patients

from control subjects better than high-density lipoprotein cholesterol levels and are favorably affected by simvastatin treatment. *Circulation*. 2003; 108(22): 2751-2756.

Ansell BJ, Watson KE, Fogelman AM, Navab M, Fonarow GC. High-density lipoprotein function recent advances. *J Am Coll Cardiol*. 2005; 46(10):1792-8.

Arsenault BJ, Després JP. HDL cholesterol is not HDL--don't judge the book by its cover. *Nat Rev Cardiol*. 2012; 9(10): 557-558. doi: 10.1038/nrcardio.2012.127.

Asztalos BF, Sloop CH, Wong L, Roheim PS. Two-dimensional electrophoresis of plasma lipoproteins: recognition of new apo A-I-containing subpopulations. *Biochim Biophys Acta*. 1993; 1169(3): 291-300.

^aAsztalos BF, Horvath K, McNamara J, Roheim P, Rubinstein J, Schaefer EJ. Comparing the effects of five different statins on the HDL subpopulation profiles of coronary heart disease patients. *Atherosclerosis*. 2002; 164: 361–369.

^bAsztalos BF, Horvath KV, McNamara JR, Roheim PS, Rubinstein JJ, Schaefer EJ. Effects of atorvastatin on the HDL subpopulation profile of coronary heart disease patients. *J Lipid Res*. 2002; 43: 1701–1707.

^aAsztalos BF, Schaefer EJ. HDL in atherosclerosis: actor or bystander? *Atheroscler Suppl*. 2003; 4(1): 21-29.

^bAsztalos BF, Schaefer EJ. High-density lipoprotein subpopulations in pathologic conditions. *Am J Cardiol*. 2003; 91(7A): 12E-17E. Review.

Asztalos BF, Le MF, Dallal GE, Stein E, Jones PH, Horvath KV, et al. Comparison of the effects of high doses of rosuvastatin versus atorvastatin on the subpopulations of high-density lipoproteins. *Am J Cardiol*. 2007; 99: 681–685.

Aviram M, Sirtori CR, Colli S, Maderna P, Morazzoni G, Tremoli E. Plasma lipoproteins affect platelet malondialdehyde and thromboxane B2 production. *Biochem Med*. 1985; 34(1): 29-36.

Aviram M, Rosenblat M, Bisgaier CL, Newton RS, Primo-Parmo SL, La Du BN. Paraoxonase inhibits high-density lipoprotein oxidation and preserves its functions. A possible peroxidative role for paraoxonase. *J Clin Invest*. 1998; 101(8): 1581-1590.

Aviram M. Atherosclerosis: cell biology and lipoproteins – paraoxonases protect against atherosclerosis and diabetes development. *Curr Opin Lipidol*. 2012; 23(2): 169–171.

Banach M, Rizzo M, Toth PP, Farnier M, Davidson MH, Al-Rasadi K, et al. Statin intolerance - an attempt at a unified definition. Position paper from an International Lipid Expert Panel. *Expert Opin Drug Saf*. 2015; 14(6): 935-955. doi: 10.1517/14740338.2015.1039980.

Bard JM, Luc G, Douste-Blazy P, Drouin P, Ziegler O, Jacotot B, et al. Effect of simvastatin on plasma lipids, apolipoproteins and lipoprotein particles in patients with primary hypercholesterolaemia. *Eur J Clin Pharmacol*. 1989; 37: 545–550.

Barter PJ, Rye KA. High density lipoproteins and coronary heart disease. *Atherosclerosis*. 1996; 121(1): 1-12.

Barter PJ, Caulfield M, Eriksson M, Grundy SM, Kastelein JJ, Komajda M, et al. Effects of torcetrapib in patients at high risk for coronary events. *N Engl J Med*. 2007; 357(21): 2109-2122.

Barter PJ, Brandrup-Wognsen G, Palmer MK, Nicholls SJ. Effect of statins on HDL-C: a complex process unrelated to changes in LDL-C: analysis of the VOYAGER Database. *J Lipid Res*. 2010; 51(6): 1546-1553. doi: 10.1194/jlr.P002816.

Bays HE, Moore PB, Drehobl MA, Rosenblatt S, Toth PD, Dujovne CA, et al. Effectiveness and tolerability of ezetimibe in patients with primary hypercholesterolemia: pooled analysis of two phase II studies. *Clin Ther*. 2001; 23: 1209–1230.

Bays H. Statin safety: an overview and assessment of the data--2005. *Am J Cardiol*. 2006; 97(8A): 6C-26C. Bell TA, Graham MJ, Lee RG, Mullick AE, Fu W, Norris D, et al. Antisense oligonucleotide inhibition of cholesteryl ester transfer protein enhances RCT in hyperlipidemic, CETP transgenic, LDLr_{-/-} mice. *J Lipid Res*. 2013; 54: 2647–2657.

Berge KE, Tian H, Graf GA, Yu L, Grishin NV, Schultz J, et al. Accumulation of dietary cholesterol in sitosterolemia caused by mutations in adjacent ABC transporters. *Science*. 2000; 290(5497): 1771-1775.

Berger JP, Akiyama TE, Meinke PT. PPARs: therapeutic targets for metabolic disease. *Trends Pharmacol Sci*. 2005; 26: 244–251.

Bergt C, Pennathur S, Fu X, Byun J, O'Brien K, McDonald TO, et al. The myeloperoxidase product hypochlorous acid oxidizes HDL in the human artery wall and impairs ABCA1-dependent cholesterol transport. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004; 101: 13032–13037.

Berneis K, Rizzo M, Berthold HK, Spinaz GA, Krone W, Gouni-Berthold I. Ezetimibe alone or in combination with simvastatin increases small dense low-density lipoproteins in healthy men: a randomized trial. *Eur Heart J*. 2010; 31: 1633–1639.

Bertrand OF, Poirier P, Rodés-Cabau J, Rinfret S, Title LM, Dzavik V, et al. Cardiometabolic effects of rosiglitazone in patients with type 2 diabetes and coronary artery bypass grafts: A randomized placebo-controlled clinical trial. *Atherosclerosis*. 2010; 211(2): 565-573. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2010.06.005.

- Besler C, Heinrich K, Rohrer L, Doerries C, Riwanto M, Shih DM, et al. Mechanisms underlying adverse effects of HDL on eNOS-activating pathways in patients with coronary artery disease. *J Clin Invest*. 2011; 21: 2693–2708.
- Besler C, Lüscher TF, Landmesser U. Molecular mechanisms of vascular effects of High-density lipoprotein: alterations in cardiovascular disease. *EMBO Mol Med*. 2012; 4(4): 251-268. doi: 10.1002/emmm.201200224.
- Bettters JL, Yu L. NPC1L1 and cholesterol transport. *FEBS Lett*. 2010; 584: 2740–2747.
- Bhattacharyya T, Nicholls SJ, Topol EJ, Zhang R, Yang X, Schmitt D, et al. Relationship of paraoxonase 1 (PON1) gene polymorphisms and functional activity with systemic oxidative stress and cardiovascular risk. *JAMA*. 2008; 299(11): 1265–1276.
- Biasucci LM, D'Onofrio G, Liuzzo G, Zini G, Monaco C, Caligiuri G, et al. Intracellular neutrophil myeloperoxidase is reduced in unstable angina and acute myocardial infarction, but its reduction is not related to ischemia. *J Am Coll Cardiol*. 1996; 27(3): 611-616.
- Bielicki JK, Zhang H, Cortez Y, Zheng Y, Narayanaswami V, Patel A, et al. A new HDL mimetic peptide that stimulates cellular cholesterol efflux with high efficiency greatly reduces atherosclerosis in mice. *J Lipid Res*. 2010; 51: 1496–1503. doi:10.1194/jlr.M003665
- Bisgaier CL, Sachdev OP, Megna L, Glickman RM. Distribution of apolipoprotein A-IV in human plasma. *J Lipid Res*. 1985; 26(1): 11–25.
- Blanche PJ, Gong EL, Forte TM, Nichols AV. Characterization of human high-density lipoproteins by gradient gel electrophoresis. *Biochim Biophys Acta*. 1981; 665(3): 408-419.
- Bortnick AE, Rothblat GH, Stoudt G, Hoppe KL, Royer LJ, McNeish J, et al. The correlation of ATP-binding cassette 1 mRNA levels with cholesterol efflux from various cell lines. *J Biol Chem*. 2000; 275: 28634–28640.
- Bots ML, Visseren FL, Evans GW, Riley WA, Revkin JH, Tegeler CH, et al. Torcetrapib and carotid intima-media thickness in mixed dyslipidaemia (RADIANCE 2 study): a randomised, double-blind trial. *Lancet*. 2007; 370(9582): 153-160.
- Bowry VW, Stanley KK, Stocker R. High density lipoprotein is the major carrier of lipid hydroperoxides in human blood plasma from fasting donors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992; 89(21): 10316–10320.
- Brown ML, Inazu A, Hesler CB, Agellon LB, Mann C, Whitlock ME, et al. Molecular basis of lipid transfer protein deficiency in a family with increased high-density lipoproteins. *Nature*. 1989; 342(6248): 448-451.
- Brunham LR, Kruit JK, Iqbal J, Fievet C, Timmins JM, Pape TD, et al. Intestinal ABCA1 directly contributes to HDL biogenesis in vivo. *J Clin Invest*. 2006; 116(4): 1052-1062.

Cabana VG, Lukens JR, Rice KS, Hawkins TJ, Getz GS. HDL content and composition in acute phase response in three species: triglyceride enrichment of HDL a factor in its decrease. *J Lipid Res.* 1996; 37(12): 2662–2674.

Camont L, Lhomme M, Rached F, Le Goff W, Nègre-Salvayre A, Salvayre R, et al. Small, dense high-density lipoprotein-3 particles are enriched in negatively charged phospholipids: relevance to cellular cholesterol efflux, antioxidative, antithrombotic, anti-inflammatory, and antiapoptotic functionalities. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2013; 33(12): 2715-2723. doi: 10.1161/ATVBAHA.113.301468.

Camps J, Marsillach J, Joven J. The paraoxonases: role in human diseases and methodological difficulties in measurement. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 2009; 46(2): 83-106.

Castro GR, Fielding CJ. Early incorporation of cell-derived cholesterol into prebeta-migrating high density lipoprotein. *Biochemistry.* 1988; 27(1): 25-29.

Castro-Torres IG, De la O-Arciniega M, Bravo-Duarte GA, Gallegos-Estudillo J, Domínguez-Ortíz MÁ, Martínez-Vázquez M. Intestinal and hepatic Niemann-Pick C1L1 proteins: future therapeutic targets for cholesterol gallstones disease? *Eur J Pharmacol.* 2014; 728: 77-81. doi: 10.1016/j.ejphar.2014.01.067.

Cavigiolio G, Geier EG, Shao B, Heinecke JW, Oda MN. Exchange of apolipoprotein A-I between lipid-associated and lipid-free states: a potential target for oxidative generation of dysfunctional high density lipoproteins. *J Biol Chem.* 2010; 285(24): 18847–18857.

Cavusoglu E, Ruwende C, Chopra V, Yanamadala S, Eng C, Clark LT, et al. Tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) is an independent predictor of all-cause mortality, cardiac mortality, and myocardial infarction. *Am Heart J.* 2006; 151: 1101.e1-8.

Charakida M, Besler C, Batuca JR, Sangle S, Marques S, Sousa M, et al. Vascular abnormalities, paraoxonase activity, and dysfunctional HDL in primary antiphospholipid syndrome. *JAMA.* 2009; 302: 1210–1217.

Chiquette E, Ramirez G, Defronzo R. A meta-analysis comparing the effect of thiazolidinediones on cardiovascular risk factors. *Arch Intern Med.* 2004; 164(19): 2097-2104.

Christison JK, Rye KA, Stocker R. Exchange of oxidized cholesteryl linoleate between LDL and HDL mediated by cholesteryl ester transfer protein. *J Lipid Res.* 1995; 36(9): 2017–2026.

Christison J, Karjalainen A, Brauman J, Bygrave F, Stocker R. Rapid reduction and removal of HDL- but not LDL-associated cholesteryl ester hydroperoxides by rat liver perfused in situ. *Biochem J.* 1996; 314: 739-742.

Chroni A, Liu T, Gorshkova I, Kan HY, Uehara Y, Von Eckardstein A, et al. The central helices of ApoA-I can promote ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1)-mediated lipid

efflux. Amino acid residues 220-231 of the wild-type ApoA-I are required for lipid efflux in vitro and high density lipoprotein formation in vivo. *J Biol Chem*. 2003; 278(9): 6719–6730.

Chroni A, Liu T, Fitzgerald ML, Freeman MW, Zannis VI. Cross-linking and lipid efflux properties of apoA-I mutants suggest direct association between apoA-I helices and ABCA1. *Biochemistry*. 2004; 43(7): 2126–2139.

Chyu KY, Peter A, Shah PK. Progress in HDL-based therapies for atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep*. 2011; 13(5): 405-412. doi: 10.1007/s11883-011-0189-9.

Cimmino G, Ciccarelli G, Morello A, Ciccarelli M, Golino P. High Density Lipoprotein Cholesterol Increasing Therapy: The Unmet Cardiovascular Need. *Transl Med UniSa*. 2014; 12: 29-40.

Cohen JC, Pertsemlidis A, Fahmi S, Esmail S, Vega GL, Grundy SM, et al. Multiple rare variants in NPC1L1 associated with reduced sterol absorption and plasma low-density lipoprotein levels. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006; 103: 1810–1815.

Cohen DE. Balancing cholesterol synthesis and absorption in the gastrointestinal tract. *J Clin Lipidol*. 2008; 2(2): S1-3. doi: 10.1016/j.jacl.2008.01.004.

Connelly PW. The role of hepatic lipase in lipoprotein metabolism. *Clin Chim Acta*. 1999; 286(1-2): 243-255.

Costa LG, Giordano G, Cole TB, Marsillach J, Furlong CE. Paraoxonase 1 (PON1) as a genetic determinant of susceptibility to organophosphate toxicity. *Toxicology*. 2013; 307: 115–122.

Costet P. Molecular pathways and agents for lowering LDL-cholesterol in addition to statins. *Pharmacol Ther*. 2010; 126(3): 263-278. doi: 10.1016/j.pharmthera.2010.02.006.

Cui D, Thorp E, Li Y, Wang N, Yvan-Charvet L, Tall AR, et al. Pivotal advance: macrophages become resistant to cholesterol-induced death after phagocytosis of apoptotic cells. *J Leukoc Biol*. 2007; 82(5): 1040-1050.

Daniil G, Zannis VI, Chroni A. Effect of apoA-I mutations in the capacity of reconstituted HDL to promote ABCG1-mediated cholesterol efflux. *PLoS ONE*. 2013; 8: e67993.

Dávalos A, Chroni A. Antisense oligonucleotides, microRNAs, and antibodies. *Handb Exp Pharmacol*. 2015; 224: 649-689. doi: 10.1007/978-3-319-09665-0_22.

Davidson WS, Silva RA, Chantepie S, Lagor WR, Chapman MJ, Kontush A. Proteomic analysis of defined HDL subpopulations reveals particle-specific protein clusters: relevance to antioxidative function. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2009; 29(6): 870–876.

Davidson MH, Voogt J, Luchoomun J, Decaris J, Killion S, Boban D, et al. Inhibition of intestinal cholesterol absorption with ezetimibe increases components of reverse cholesterol

transport in humans. *Atherosclerosis*. 2013; 230(2): 322-329. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2013.08.006.

Davis HR Jr, Zhu LJ, Hoos LM, Tetzloff G, Maguire M, Liu J, et al. Niemann-Pick C1 Like 1 (NPC1L1) is the intestinal phytosterol and cholesterol transporter and a key modulator of whole-body cholesterol homeostasis. *J Biol Chem*. 2004; 279: 33586–33592.

Davis HR Jr, Tershakovec AM, Tomassini JE, Musliner T. Intestinal sterol transporters and cholesterol absorption inhibition. *Curr Opin Lipidol*. 2011; 22(6): 467-478. doi: 10.1097/MOL.0b013e32834c7c28.

De Lalla OF, Gofman JW. Ultracentrifugal analysis of serum lipoproteins. *Methods Biochem Anal*. 1954; 1: 459-478.

de Souza JA, Vindis C, Hansel B, Negre-Salvayre A, Therond P, Serrano CV Jr, et al. Metabolic syndrome features small, apolipoprotein A-I-poor, triglyceride-rich HDL3 particles with defective anti-apoptotic activity. *Atherosclerosis*. 2008; 197: 84–94.

de Souza JA, Vindis C, Nègre-Salvayre A, Rye KA, Couturier M, Therond P, et al. Small, dense HDL 3 particles attenuate apoptosis in endothelial cells: pivotal role of apolipoprotein A-I. *J Cell Mol Med*. 2010; 14(3): 608-620.

Drew BG, Fidge NH, Gallon-Beaumier G, Kemp BE, Kingwell BA. High-density lipoprotein and apolipoprotein AI increase endothelial NO synthase activity by protein association and multisite phosphorylation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004; 101(18): 6999-7004.

Dujovne CA, Ettinger MP, McNeer JF, Lipka LJ, LeBeaut AP, Suresh R, et al. Efficacy and safety of a potent new selective cholesterol absorption inhibitor, ezetimibe, in patients with primary hypercholesterolemia. *Am J Cardiol*. 2002; 90: 1092–1097.

Eberini I, Calabresi L, Wait R, Tedeschi G, Pirillo A, Puglisi L, et al. Macrophage metalloproteinases degrade high-density-lipoprotein-associated apolipoprotein A-I at both the N- and C-termini. *Biochem J*. 2002; 362(Pt 3): 627–634.

Favari E, Bernini F, Tarugi P, Franceschini G, Calabresi L, et al. The C-terminal domain of apolipoprotein A-I is involved in ABCA1-driven phospholipid and cholesterol efflux. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002; 299(5): 801-805.

Favari E, Lee M, Calabresi L, Franceschini G, Zimetti F, Bernini F, et al. Depletion of pre-beta-high density lipoprotein by human chymase impairs ATP-binding cassette transporter A1- but not scavenger receptor class B type I-mediated lipid efflux to high density lipoprotein. *J Biol Chem*. 2004; 279(11): 9930-9936.

Favari E, Chroni A, Tietge UJ, Zanotti I, Escolà-Gil JC, Bernini F. Cholesterol efflux and reverse cholesterol transport. *Handb Exp Pharmacol*. 2015; 224:181-206. doi: 10.1007/978-3-319-09665-0_4.

Ferretti G, Bacchetti T, Moroni C, Savino S, Liuzzi A, Balzola F, et al. Paraoxonase activity in high-density lipoproteins: a comparison between healthy and obese females. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005; 90(3): 1728-1733.

Fielding CJ, Fielding PE. Evidence for a lipoprotein carrier in human plasma catalyzing sterol efflux from cultured fibroblasts and its relationship to lecithin: cholesterol acyltransferase. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1981; 78(6): 3911-3914.

Fisher EA, Feig JE, Hewing B, Hazen SL, Smith JD. High-density lipoprotein function, dysfunction, and reverse cholesterol transport. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2012; 32(12): 2813-2820.

Florentin M, Liberopoulos EN, Wierzbicki AS, Mikhailidis DP. Multiple actions of high-density lipoprotein. *Curr Opin Cardiol*. 2008; 23(4): 370-378. doi: 10.1097/HCO.0b013e3283043806.

Fogelman AM. The complexity of high-density lipoproteins. *Circulation*. 2010; 122(19): 1900-1901. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.110.984120.

Forrest MJ, Bloomfield D, Briscoe RJ, Brown PN, Cumiskey AM, Ehrhart J, et al. Torcetrapib-induced blood pressure elevation is independent of CETP inhibition and is accompanied by increased circulating levels of aldosterone. *Br J Pharmacol*. 2008; 154(7): 1465-1473. doi: 10.1038/bjp.2008.229.

Franceschini G, Sirtori M, Vaccarino V, Gianfranceschi G, Chiesa G, Sirtori CR. Plasma lipoprotein changes after treatment with pravastatin and gemfibrozil in patients with familial hypercholesterolemia. *J Lab Clin Med*. 1989; 114: 250-259.

Franceschini G, Calabresi L, Colombo C, Favari E, Bernini F, Sirtori CR. Effects of fenofibrate and simvastatin on HDL-related biomarkers in low-HDL patients. *Atherosclerosis*. 2007; 195: 385-391.

Fuhrman B, Koren L, Volkova N, Keidar S, Hayek T, Aviram M. Atorvastatin therapy in hypercholesterolemic patients suppresses cellular uptake of oxidized-LDL by differentiating monocytes. *Atherosclerosis*. 2002; 164: 179-185.

Furlong CE, Holland N, Richter RJ, Bradman A, Ho A, Eskenazi B. PON1 status of farmworker mothers and children as a predictor of organophosphate sensitivity. *Pharmacogenet Genomics*. 2006; 16(3):183-190.

Fülöp P, Seres I, Lőrincz H, Harangi M, Somodi S, Paragh G. Association of chemerin with oxidative stress, inflammation and classical adipokines in non-diabetic obese patients. *J Cell Mol Med.* 2014; 18: 1313-1320.

Galis ZS, Sukhova GK, Lark MW, Libby P. Increased expression of matrix metalloproteinases and matrix degrading activity in vulnerable regions of human atherosclerotic plaques. *J Clin Invest.* 1994; 94: 2493-2503.

Garcia-Calvo M, Lisnock J, Bull HG, Hawes BE, Burnett DA, Braun MP, et al. The target of ezetimibe is Niemann-Pick C1-Like 1 (NPC1L1). *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005; 102(23): 8132-8137.

Garin MC, James RW, Dussoix P, Blanché H, Passa P, Froguel P, et al. Paraoxonase polymorphism Met-Leu54 is associated with modified serum concentrations of the enzyme. A possible link between the paraoxonase gene and increased risk of cardiovascular disease in diabetes. *J Clin Invest.* 1997; 99(1): 62-66.

Garner B, Waldeck AR, Witting PK, Rye KA, Stocker R. Oxidation of high density lipoproteins. II. Evidence for direct reduction of lipid hydroperoxides by methionine residues of apolipoproteins AI and AII. *J Biol Chem.* 1998; 273(11): 6088–6095.

Ge L, Wang J, Qi W, Miao HH, Cao J, Qu YX, et al. The cholesterol absorption inhibitor ezetimibe acts by blocking the sterol-induced internalization of NPC1L1. *Cell Metab.* 2008; 7(6): 508-519. doi: 10.1016/j.cmet.2008.04.001.

Ginsberg HN, Elam MB, Lovato LC, Crouse JR III, Leiter LA, Linz P, et al. Effects of combination lipid therapy in type 2 diabetes mellitus. *N Engl J Med.* 2010; 362: 1563–1574.

Goldberg RB, Kendall DM, Deeg MA, Buse JB, Zagar AJ, Pinaire JA, et al. A comparison of lipid and glycemic effects of pioglitazone and rosiglitazone in patients with type 2 diabetes and dyslipidemia. *Diabetes Care.* 2005; 28(7): 1547-1554.

Gomaschi M, Adorni MP, Banach M, Bernini F, Franceschini G, Calabresi L. Effects of established hypolipidemic drugs on HDL concentration, subclass distribution, and function. *Handb Exp Pharmacol.* 2015; 224: 593-615. doi: 10.1007/978-3-319-09665-0_19.

Goswami B, Tayal D, Gupta N, Mallika V. Paraoxonase: a multifaceted biomolecule. *Clin Chim Acta.* 2009; 410(1-2): 1-12. doi: 10.1016/j.cca.2009.09.025.

Goulinet S, Chapman MJ. Plasma LDL and HDL subspecies are heterogeneous in particle content of tocopherols and oxygenated and hydrocarbon carotenoids. Relevance to oxidative resistance and atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997; 17(4): 786-796.

- Goyal J, Wang K, Liu M, Subbaiah PV. Novel function of lecithin-cholesterol acyltransferase. Hydrolysis of oxidized polar phospholipids generated during lipoprotein oxidation. *J Biol Chem*. 1997; 272(26): 16231–16239.
- Graner M, James RW, Kahri J, Nieminen MS, Syvanne M, Taskinen MR. Association of paraoxonase-1 activity and concentration with angiographic severity and extent of coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*. 2006; 47(12): 2429–2435.
- Graversen JH, Castro G, Kandoussi A, Nielsen H, Christensen EI, Norden A, et al. A pivotal role of the human kidney in catabolism of HDL protein components apolipoprotein A-I and A-IV but not of A-II. *Lipids*. 2008; 43(5): 467-470. doi: 10.1007/s11745-008-3169-2.
- Griffin JH, Kojima K, Banka CL, Curtiss LK, Fernández JA. High-density lipoprotein enhancement of anticoagulant activities of plasma protein S and activated protein C. *J Clin Invest*. 1999; 103(2): 219-227.
- Guerin M, Lassel TS, Le Goff W, Farnier M, Chapman MJ. Action of atorvastatin in combined hyperlipidemia: preferential reduction of cholesteryl ester transfer from HDL to VLDL1 particles. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000; 20: 189–197.
- Gugliucci A, Menini T. Paraoxonase 1 and HDL maturation. *Clin Chim Acta*. 2015; 439: 5-13.
- Gutstein DE, Krishna R, Johns D, Surks HK, Dansky HM, Shah S, et al. Anacetrapib, a novel CETP inhibitor: pursuing a new approach to cardiovascular risk reduction. *Clin Pharmacol Ther*. 2012; 91(1): 109-122. doi: 10.1038/clpt.2011.271.
- Haghighpassand M, Bourassa PA, Francone OL, Aiello RJ. Monocyte/macrophage expression of ABCA1 has minimal contribution to plasma HDL levels. *J Clin Invest*. 2001; 108: 1315–1320.
- Hamoud S, Kaplan M, Meilin E, Hassan A, Torgovicky R, Cohen R, et al. Niacin administration significantly reduces oxidative stress in patients with hypercholesterolemia and low levels of high-density lipoprotein cholesterol. *Am J Med Sci*. 2013; 345: 195–199.
- Haraguchi Y, Toh R, Hasokawa M, Nakajima H, Honjo T, Otsui K, et al. Serum myeloperoxidase/paraoxonase 1 ratio as potential indicator of dysfunctional high-density lipoprotein and risk stratification in coronary artery disease. *Atherosclerosis*. 2014; 234: 288-294.
- Harangi M, Seres I, Varga Z, Emri G, Szilvassy Z, Paragh G, et al. Atorvastatin effect on high-density lipoprotein-associated paraoxonase activity and oxidative DNA damage. *Eur J Clin Pharmacol*. 2004; 60: 685–691.
- Harangi M, Köbling T, Paragh G. Reverse cholesterol transport [In Hungarian]. *Metabolizmus*. 2005; 2: 56-60.

Harangi M, Mirdamadi HZ, Seres I, Sztanek F, Molnar M, Kassai A, et al. Atorvastatin effect on the distribution of high-density lipoprotein subfractions and human paraoxonase activity. *Transl Res*. 2009; 153:1 90–198.

^aHarangi M, Zsíros N, Juhász L, Paragh G. Statin-induced adverse effects – facts and genes [In Hungarian]. *Orv. Hetil*. 2013; 154: 83–92.

^bHarangi M, Seres I, Balogh I, Köbling T, Harangi J, Varga J, et al. Effect of apolipoprotein E genotypes on the efficacy of ezetimibe monotherapy in patients with statin induced adverse effects. *Int J Clin Pharmacol Ther*. 2013; 51(9): 746-52. doi: 10.5414/CP201905.

Hedrick CC, Thorpe SR, Fu MX, Harper CM, Yoo J, Kim SM, et al. Glycation impairs high-density lipoprotein function. *Diabetologia*. 2000; 43: 312–320.

Hegele RA, Guy J, Ban MR, Wang J. NPC1L1 haplotype is associated with inter-individual variation in plasma low-density lipoprotein response to ezetimibe. *Lipids Health Dis*. 2005; 4: 16.

Heinecke JW. The HDL proteome: a marker--and perhaps mediator--of coronary artery disease. *J Lipid Res*. 2009; 50; Suppl: S167-171. doi: 10.1194/jlr.R800097-JLR200.

Henning MF, Herlax V, Bakás L. Contribution of the C-terminal end of apolipoprotein AI to neutralization of lipopolysaccharide endotoxic effect. *Innate Immun*. 2011; 17(3): 327-337.

Hill SA, McQueen MJ. Reverse cholesterol transport--a review of the process and its clinical implications. *Clin Biochem*. 1997; 30(7): 517-525.

Home PD, Jones NP, Pocock SJ, Beck-Nielsen H, Gomis R, Hanefeld M, et al. Rosiglitazone RECORD study: glucose control outcomes at 18 months. *Diabet Med*. 2007; 24(6): 626-634.

Home PD, Pocock SJ, Beck-Nielsen H, Curtis PS, Gomis R, Hanefeld M, et al. Rosiglitazone evaluated for cardiovascular outcomes in oral agent combination therapy for type 2 diabetes (RECORD): a multicentre, randomised, open-label trial. *Lancet*. 2009; 373(9681): 2125-2135. doi: 10.1016/S0140-6736(09)60953-3.

Homma Y, Ozawa H, Kobayashi T, Yamaguchi H, Sakane H, Nakamura H. Effects of simvastatin on plasma lipoprotein subfractions, cholesterol esterification rate, and cholesteryl ester transfer protein in type II hyperlipoproteinemia. *Atherosclerosis*. 1995; 114: 223–234.

Hoofnagle AN, Heinecke JW. Lipoproteomics: using mass spectrometry-based proteomics to explore the assembly, structure, and function of lipoproteins. *J Lipid Res*. 2009; 50(10): 1967-1975. doi: 10.1194/jlr.R900015-JLR200.

Hoy A, Trégouët D, Leininger-Muller B, Poirier O, Maurice M, Sass C, et al. Serum myeloperoxidase concentration in a healthy population: biological variations, familial resemblance and new genetic polymorphisms. *Eur J Hum Genet*. 2001; 9(10): 780-786.

- Hu X, Dietz JD, Xia C, Knight DR, Loging WT, Smith AH, et al. Torcetrapib induces aldosterone and cortisol production by an intracellular calcium-mediated mechanism independently of cholesteryl ester transfer protein inhibition. *Endocrinology*. 2009; 150(5): 2211-2219. doi: 10.1210/en.2008-1512.
- Huang R, Silva RA, Jerome WG, Kontush A, Chapman MJ, Curtiss LK, et al. Apolipoprotein A-I structural organization in high-density lipoproteins isolated from human plasma. *Nat Struct Mol Biol*. 2011; 18(4): 416-422. doi: 10.1038/nsmb.2028.
- Huang Y, Wu Z, Riwanto M, Gao S, Levison BS, Gu X, et al. Myeloperoxidase, paraoxonase-1, and HDL form a functional ternary complex. *J Clin Invest*. 2013; 123(9): 3815-3828. doi: 10.1172/JCI67478.
- Huang Y, DiDonato JA, Levison BS, Schmitt D, Li L, Wu Y, et al. An abundant dysfunctional apolipoprotein A1 in human atheroma. *Nat Med*. 2014; 20: 193–203.
- Inokubo Y, Hanada H, Ishizaka H, Fukushi T, Kamada T, Okumura K. Plasma levels of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 are increased in the coronary circulation in patients with acute coronary syndrome. *Am Heart J*. 2001; 141: 211-217.
- Inzucchi SE, Masoudi FA, Wang Y, Kosiborod M, Foody JM, Setaro JF, et al. Insulin-sensitizing antihyperglycemic drugs and mortality after acute myocardial infarction: insights from the National Heart Care Project. *Diabetes Care*. 2005; 28(7): 1680-1689.
- Jakubowski H. Calcium-dependent human serum homocysteine thiolactone hydrolase. A protective mechanism against protein N-homocysteinylation. *J Biol Chem*. 2000; 275(6): 3957–3962.
- James RW. A long and winding road: defining the biological role and clinical importance of paraoxonases. *Clin Chem Lab Med*. 2006, 44(9): 1052–1059. doi:10.1515/CCLM.2006.207
- Jin W, Marchadier D, Rader DJ. Lipases and HDL metabolism. *Trends Endocrinol Metab*. 2002; 13(4): 174-178.
- Jonas A. Lecitin cholesterol acyltransferase. *Biochim Biophys Acta*. 2000; 1529: 245-256.
- Jonas, A. Lipoprotein structure. In: Vance, DE.; Vance, JE., editors. *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*. 4th eds. Amsterdam: Elsevier. 2002; 483-504.
- Jornayvaz FR, Brulhart-Meynet MC, James RW. Myeloperoxidase and paraoxonase-1 in type 2 diabetic patients. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2009; 19: 613-619.
- Jucaite A, Svenningsson P, Rinne JO, Cselényi Z, Varnäs K, Johnström P, et al. Effect of the myeloperoxidase inhibitor AZD3241 on microglia: a PET study in Parkinson's disease. *Brain*. 2015; 138: 2687-2700. doi: 10.1093/brain/awv184.

- Karlsson H, Kontush A, James RW. Functionality of HDL: antioxidation and detoxifying effects. *Handb Exp Pharmacol*. 2015; 224:207-228. doi: 10.1007/978-3-319-09665-0_5.
- Kassai A, Illyes L, Mirdamadi HZ, Seres I, Kalmar T, Audikovszky M, et al. The effect of atorvastatin therapy on lecithin: cholesterol acyltransferase, cholesteryl ester transfer protein and the antioxidant paraoxonase. *Clin Biochem*. 2007; 40: 1–5.
- Kataoka Y, Shao M, Wolski K, Uno K, Puri R, Murat Tuzcu E, et al. Myeloperoxidase levels predict accelerated progression of coronary atherosclerosis in diabetic patients: insights from intravascular ultrasound. *Atherosclerosis*. 2014; 232: 377-383.
- Keech A, Simes RJ, Barter P, Best J, Scott R, Taskinen MR, et al. Effects of long-term fenofibrate therapy on cardiovascular events in 9795 people with type 2 diabetes mellitus (the field study): randomised controlled trial. *Lancet*. 2005; 366: 1849–1861.
- Kelly D, Squire IB, Khan SQ, Dhillon O, Narayan H, Ng KH, et al. Usefulness of plasma tissue inhibitors of metalloproteinases as markers of prognosis after acute myocardial infarction. *Am J Cardiol*. 2010; 106: 477-482. doi: 10.1016/j.amjcard.2010.03.060.
- Khera AV, Cuchel M, de la Llera-Moya M, Rodrigues A, Burke MF, Jafri K, et al. Cholesterol efflux capacity, high-density lipoprotein function, and atherosclerosis. *N Engl J Med*. 2011; 364: 127–135.
- Khoury N, Goldberg AC. The use of fibric acid derivatives in cardiovascular prevention. *Curr Treat Option Cardiovasc Med*. 2011; 13: 335–342.
- Khovidhunkit W, Kim MS, Memon RA, Shigenaga JK, Moser AH, Feingold KR, et al. Effects of infection and inflammation on lipid and lipoprotein metabolism: mechanisms and consequences to the host. *J Lipid Res*. 2004; 45(7): 1169–1196.
- 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: 31780–31785.
- Kimura T, Sato K, Malchinkhuu E, Tomura H, Tamama K, Kuwabara A, et al. High-density lipoprotein stimulates endothelial cell migration and survival through sphingosine 1-phosphate and its receptors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003; 23: 1283–1288.
- Knopp RH, Dujovne CA, Le Beaut A, Lipka LJ, Suresh R, Veltri EP. Evaluation of the efficacy, safety, and tolerability of ezetimibe in primary hypercholesterolaemia: a pooled analysis from two controlled phase III clinical studies. *Int J Clin Pract*. 2003; 57: 363–368.
- Koncsos P, Seres I, Harangi M, Illyés I, Józsa L, Gönczi F, et al. Human paraoxonase-1 activity in childhood obesity and its relation to leptin and adiponectin levels. *Pediatr Res*. 2010; 67(3): 309-313.

Kontush A, Chantepie S, Chapman MJ. Small, dense HDL particles exert potent protection of atherogenic LDL against oxidative stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003; 23(10): 1881–1888.

Kontush A, Therond P, Zerrad A, Couturier M, Negre-Salvayre A, de Souza JA, et al. Preferential sphingosine-1-phosphate enrichment and sphingomyelin depletion are key features of small dense HDL3 particles: relevance to antiapoptotic and antioxidative activities. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007; 27(8): 1843–1849.

Kontush A, Chapman MJ. Antiatherogenic function of HDL particle subpopulations: focus on antioxidative activities. *Curr Opin Lipidol.* 2010; 21(4):312-318. doi: 10.1097/MOL.0b013e328333bcd1.

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. doi: 10.1007/978-3-319-09665-0_1.

Kosmala W, Plaksej R, Przewlocka-Kosmala M, Kuliczowska-Plaksej J, Bednarek-Tupikowska G, Mazurek W. Matrix metalloproteinases 2 and 9 and their tissue inhibitors 1 and 2 in premenopausal obese women: relationship to cardiac function. *Int J Obes.* 2008; 32: 763-771.

Kriska T, Marathe GK, Schmidt JC, McIntyre TM, Girotti AW. Phospholipase action of platelet-activating factor acetylhydrolase, but not paraoxonase-1, on long fatty acyl chain phospholipid hydroperoxides. *J Biol Chem.* 2007; 282(1): 100–108.

Kruit JK, Wijsekara N, Westwell-Roper C, Vanmierlo T, de Haan W, Bhattacharjee A, et al. Loss of both ABCA1 and ABCG1 results in increased disturbances in islet sterol homeostasis, inflammation, and impaired β -cell function. *Diabetes.* 2012; 61(3): 659-664. doi: 10.2337/db11-1341.

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. doi: 10.1007/978-3-319-09665-0_8.

Kuvin JT, Ramet ME, Patel AR, Pandian NG, Mendelsohn ME, Karas RH. A novel mechanism for the beneficial vascular effects of high-density lipoprotein cholesterol: enhanced vasorelaxation and increased endothelial nitric oxide synthase expression. *Am Heart J.* 2002; 144: 165–172.

Lamon-Fava S, Diffenderfer MR, Barrett PH, Buchsbaum A, Nyaku M, Horvath KV, et al. Extended-release niacin alters the metabolism of plasma apolipoprotein (Apo) A-I and ApoB-containing lipoproteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2008; 28: 1672–1678.

Lee MH, Lu K, Hazard S, Yu H, Shulenin S, Hidaka H, et al. Identification of a gene, ABCG5, important in the regulation of dietary cholesterol absorption. *Nat Genet.* 2001; 27(1): 79-83.

Lee M, Kovanen PT, Tedeschi G, Oungre E, Franceschini G, Calabresi L. Apolipoprotein composition and particle size affect HDL degradation by chymase: effect on cellular cholesterol efflux. *J Lipid Res.* 2003; 44(3): 539–546.

^aLee-Rueckert M, Kovanen P. Extracellular modifications of HDL in vivo and the emerging concept of proteolytic inactivation of prebeta-HDL. *Curr Opin Lipidol.* 2011; 22(5): 394–402.

^bLee-Rueckert M, Silvennoinen R, Rotllan N, Judström I, Blanco-Vaca F, Metso J, et al. Mast cell activation in vivo impairs the macrophage reverse cholesterol transport pathway in the mouse. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011; 31(3): 520–527.

Lindstedt L, Saarinen J, Kalkkinen N, Welgus H, Kovanen PT. Matrix metalloproteinases-3, -7, and -12, but not -9, reduce high density lipoprotein-induced cholesterol efflux from human macrophage foam cells by truncation of the carboxyl terminus of apolipoprotein A-I. Parallel losses of pre-beta particles and the high affinity component of efflux. *J Biol Chem.* 1999; 274(32): 22627–22634.

Lupattelli G, Pisciotta L, De Vuono S, Siepi D, Bellocchio A, Melis F, et al. A silent mutation of Niemann-Pick C1-like 1 and apolipoprotein E4 modulate cholesterol absorption in primary hyperlipidemias. *J Clin Lipidol.* 2013; 7: 147–152.

Lüscher TF, Landmesser U, von Eckardstein A, Fogelman AM. High-density lipoprotein: vascular protective effects, dysfunction, and potential as therapeutic target. *Circ Res.* 2014; 114(1): 171-182. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.114.300935.

Macharia M, Hassan MS, Blackhurst D, Erasmus RT, Matsha TE. The growing importance of PON1 in cardiovascular health: a review. *J Cardiovasc Med (Hagerstown).* 2012; 13(7):443-453.

Mackey RH, Greenland P, Goff DC Jr, Lloyd-Jones D, Sibley CT, Mora S. High-density lipoprotein cholesterol and particle concentrations, carotid atherosclerosis, and coronary events: MESA (multi-ethnic study of atherosclerosis). *J Am Coll Cardiol.* 2012; 60(6): 508-516. doi: 10.1016/j.jacc.2012.03.060.

Mackness B, Durrington P, McElduff P, Yarnell J, Azam N, Watt M, et al. Low paraoxonase activity predicts coronary events in the Caerphilly prospective study. *Circulation.* 2003; 107: 2775–2779.

Mackness B, Beltran-Debon R, Aragonés G, Joven J, Camps J, Mackness M. Human tissue distribution of paraoxonases 1 and 2 mRNA. *IUBMB Life.* 2010; 62(6): 480-482. doi: 10.1002/iub.347.

- McMahon M, Grossman J, FitzGerald J, Dahlin-Lee E, Wallace DJ, Thong BY, et al. Proinflammatory high density lipoprotein as a biomarker for atherosclerosis in patients with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2006; 54: 2541–2549.
- Maddipati KR, Marnett LJ. Characterization of the major hydroperoxide-reducing activity of human plasma. Purification and properties of a selenium-dependent glutathione peroxidase. *J Biol Chem.* 1987; 262(36): 17398-17403.
- Marsche G, Saemann MD, Heinemann A, Holzer M. Inflammation alters HDL composition and function: implications for HDL-raising therapies. *Pharmacol Ther.* 2013.137 (3):341-51. doi: 10.1016/j.pharmthera.2012.12.001.
- Martín B, Solanas-Barca M, García-Otín AL, Pampín S, Cofán M, Ros E, et al. An NPC1L1 gene promoter variant is associated with autosomal dominant hypercholesterolemia. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2010; 20: 236–242.
- Masoudi FA, Inzucchi SE, Wang Y, Havranek EP, Foody JM, Krumholz HM. Thiazolidinediones, metformin, and outcomes in older patients with diabetes and heart failure: an observational study. *Circulation.* 2005; 111(5): 583-590.
- Maugeais C, Annema W, Blum D, Mary JL, Tietge UJ. rHDL administration increases reverse cholesterol transport in mice, but is not additive on top of ezetimibe or cholestyramine treatment. *Atherosclerosis.* 2013; 229(1): 94–101.
- Mei X, Atkinson D. Lipid-free Apolipoprotein A-I Structure: Insights into HDL Formation and Atherosclerosis Development. *Arch Med Res.* 2015; 46(5): 351-360. doi: 10.1016/j.arcmed.2015.05.012.
- Millar JS, Ikewaki K, Bloedon LT, Wolfe ML, Szapary PO, Rader DJ. Effect of rosiglitazone on HDL metabolism in subjects with metabolic syndrome and low HDL. *J Lipid Res.* 2011; 52(1): 136-142. doi: 10.1194/jlr.P008136.
- Mineo C, Yuhanna IS, Quon MJ, Shaul PW. High density lipoprotein-induced endothelial nitric-oxide synthase activation is mediated by Akt and MAP kinases. *J Biol Chem.* 2003; 278: 9142–9149.
- Mittal B, Mishra A, Srivastava A, Kumar S, Garg N. Matrix metalloproteinases in coronary artery disease. *Adv Clin Chem.* 2014; 64: 1-72.
- Moldoveanu E, Tanaseanu C, Tanaseanu S, Kosaka T, Manea G, Marta DS, et al. Plasma markers of endothelial dysfunction in type 2 diabetics. *Eur J Intern Med.* 2006;17(1): 38-42.
- Molina Portela MP, Raper J, Tomlinson S. An investigation into the mechanism of trypanosome lysis by human serum factors. *Mol Biochem Parasitol.* 2000; 110(2): 273-282.

- Morgantini C, Natali A, Boldrini B, Imaizumi S, Navab M, Fogelman AM, et al. Anti-inflammatory and antioxidant properties of HDLs are impaired in type 2 diabetes. *Diabetes*. 2011; 60: 2617–2623.
- Movva R, Rader DJ. Laboratory assessment of HDL heterogeneity and function. *Clin Chem*. 2008; 54(5):788-800. doi: 10.1373/clinchem.2007.101923.
- Murphy AJ, Bijl N, Yvan-Charvet L, Welch CB, Bhagwat N, Reheman A, et al. Cholesterol efflux in megakaryocyte progenitors suppresses platelet production and thrombocytosis. *Nat Med*. 2013; 19(5): 586-594. doi: 10.1038/nm.3150.
- Nagila A, Permpongpaiboon T, Tantrarongroj S, Porapakham P, Chinwattana K, Deakin S, et al. Effect of atorvastatin on paraoxonase1 (PON1) and oxidative status. *Pharmacol Rep*. 2009; 61: 892–898.
- Nanjee MN, Cooke CJ, Garvin R, Semeria F, Lewis G, Olszewski WL, et al. Intravenous apoA-I/lecithin discs increase pre-beta-HDL concentration in tissue fluid and stimulate reverse cholesterol transport in humans. *J Lipid Res*. 2001; 42(10): 1586-1593.
- Navab M, Imes SS, Hama SY, Hough GP, Ross LA, Bork RW, et al. Monocyte transmigration induced by modification of low density lipoprotein in cocultures of human aortic wall cells is due to induction of monocyte chemotactic protein 1 synthesis and is abolished by high density lipoprotein. *J Clin Invest*. 1991; 88(6): 2039-2046.
- ^aNavab M, Hama SY, Cooke CJ, Anantharamaiah GM, Chaddha M, Jin L, et al. Normal high density lipoprotein inhibits three steps in the formation of mildly oxidized low density lipoprotein: step 1. *J Lipid Res*. 2000; 41: 1481–1494.
- ^bNavab M, Hama SY, Anantharamaiah GM, Hassan K, Hough GP, Watson AD, et al. Normal high density lipoprotein inhibits three steps in the formation of mildly oxidized low density lipoprotein: steps 2 and 3. *J Lipid Res*. 2000; 41: 1495–1508.
- Navab M, Hama SY, Hough GP, Subbanagounder G, Reddy ST, Fogelman AM. A cellfree assay for detecting HDL that is dysfunctional in preventing the formation of or inactivating oxidized phospholipids. *J Lipid Res*. 2001; 42: 1308–1317.
- Navab M, Anantharamaiah GM, Reddy ST, Hama S, Hough G, Grijalva VR, et al. Oral D-4F causes formation of pre-beta high-density lipoprotein and improves high-density lipoprotein-mediated cholesterol efflux and reverse cholesterol transport from macrophages in apolipoprotein E-null mice. *Circulation*. 2004; 109(25): 3215-3220.
- Navab M, Reddy ST, Van Lenten BJ, Fogelman AM. HDL and cardiovascular disease: atherogenic and atheroprotective mechanisms. *Nat Rev Cardiol*. 2011; 8(4): 222-232. doi: 10.1038/nrcardio.2010.222.

Nichols AV, Krauss RM, Musliner TA. Nondenaturing polyacrylamide gradient gel electrophoresis. *Methods Enzymol.* 1986; 128: 417-431.

^aNicholls SJ, Cutri B, Worthley SG, Kee P, Rye KA, Bao S, et al. Impact of short-term administration of high-density lipoproteins and atorvastatin on atherosclerosis in rabbits. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005; 25: 2416–2421.

^bNicholls SJ, Dusting GJ, Cutri B, Bao S, Drummond GR, Rye KA, et al. Reconstituted high-density lipoproteins inhibit the acute pro-oxidant and proinflammatory vascular changes induced by a periarterial collar in normocholesterolemic rabbits. *Circulation.* 2005; 111(12): 1543-1550.

^aNissen SE, Wolski K. Effect of rosiglitazone on the risk of myocardial infarction and death from cardiovascular causes. *N Engl J Med.* 2007; 356(24): 2457-2471.

^bNissen SE, Tardif JC, Nicholls SJ, Revkin JH, Shear CL, Duggan WT, et al. Effect of torcetrapib on the progression of coronary atherosclerosis. *N Engl J Med.* 2007; 356(13): 1304-1316.

Nobecourt E, Tabet F, Lambert G, Puranik R, Bao S, Yan L, et al. Nonenzymatic glycation impairs the antiinflammatory properties of apolipoprotein A-I. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010; 30: 766–772.

Nofer JR, Levkau B, Wolinska I, Junker R, Fobker M, von Eckardstein A, et al. Suppression of endothelial cell apoptosis by high density lipoproteins (HDL) and HDL-associated lysosphingolipids. *J Biol Chem.* 2001; 276: 34480–34485.

Nofer JR, van der Giet M, Tolle M, Wolinska I, von Wnuck LK, Baba HA, et al. HDL induces NO-dependent vasorelaxation via the lysophospholipid receptor S1P3. *J Clin Invest.* 2004; 113: 569–581.

Odobasic D, Kitching AR, Holdsworth SR. Neutrophil-Mediated Regulation of Innate and Adaptive Immunity: The Role of Myeloperoxidase. *J Immunol Res.* 2016; 2016: 2349817. doi: 10.1155/2016/2349817.

Otocka-Kmiecik A, Mikhailidis DP, Nicholls SJ, Davidson M, Rysz J, Banach M. Dysfunctional HDL: a novel important diagnostic and therapeutic target in cardiovascular disease? *Prog Lipid Res.* 2012; 51(4): 314-324. doi: 10.1016/j.plipres.2012.03.003.

Otvos JD, Collins D, Freedman DS, Shalaurova I, Schaefer EJ, McNamara JR, et al. Low-density lipoprotein and high-density lipoprotein particle subclasses predict coronary events and are favorably changed by gemfibrozil therapy in the veterans affairs high-density lipoprotein intervention trial. *Circulation.* 2006; 113: 1556–1563.

Pandor A, Ara RM, Tumur I, Wilkinson AJ, Paisley S, Duenas A, et al. Ezetimibe monotherapy for cholesterol lowering in 2,722 people: systematic review and meta-analysis

of randomized controlled trials. *J Intern Med.* 2009 May; 265(5):568-580. doi: 10.1111/j.1365-2796.2008.02062.x.

Paragh G, Seres I, Balogh Z, Varga Z, Karpati I, Matyus J, et al. The serum paraoxonase activity in patients with chronic renal failure and hyperlipidemia. *Nephron.* 1998; 80: 166-170.

Paragh G, Seres I, Harangi M, Balogh Z, Illyes L, Boda J, et al. The effect of micronised fenofibrate on paraoxonase activity in patients with coronary heart disease. *Diabetes Metab.* 2003; 29: 613–618.

Paszy C, Maeda N, Verstuyft J, Rubin EM. Apolipoprotein AI transgene corrects apolipoprotein E deficiency-induced atherosclerosis in mice. *J Clin Invest.* 1994; 94: 899–903.

Patel PJ, Khera AV, Jafri K, Wilensky RL, Rader DJ. The anti-oxidative capacity of high-density lipoprotein is reduced in acute coronary syndrome but not in stable coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol.* 2011; 58: 2068–2075.

Patel PJ, Khera AV, Wilensky RL, Rader DJ. Anti-oxidative and cholesterol efflux capacities of high-density lipoprotein are reduced in ischaemic cardiomyopathy. *Eur J Heart Fail.* 2013; 15(11): 1215–1219.

Pearson T, Ballantyne C, Sisk C, Shah A, Veltri E, Maccubbin D. Comparison of effects of ezetimibe/simvastatin versus simvastatin versus atorvastatin in reducing C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels. *Am J Cardiol.* 2007; 99: 1706–1713.

Pérez-Méndez Ó, Pacheco HG, Martínez-Sánchez C, Franco M. HDL-cholesterol in coronary artery disease risk: function or structure? *Clin Chim Acta.* 2014; 429: 111-122. doi: 10.1016/j.cca.2013.12.001.

Persegol L, Verges B, Foissac M, Gambert P, Duvillard L. Inability of HDL from type 2 diabetic patients to counteract the inhibitory effect of oxidised LDL on endothelium-dependent vasorelaxation. *Diabetologia.* 2006; 49: 1380–1386.

Phuntuwate W, Suthisisang C, Koanantakul B, Chaloeiphap P, Mackness B, Mackness M. Effect of fenofibrate therapy on paraoxonase1 status in patients with low HDL-C levels. *Atherosclerosis.* 2008; 196: 122–128.

Podrez EA. Anti-oxidant properties of high-density lipoprotein and atherosclerosis. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2010; 37(7): 719-725. doi: 10.1111/j.1440-1681.2010.05380.x.

Polisecki E, Muallem H, Maeda N, Peter I, Robertson M, McMahon AD, et al. Genetic variation at the LDL receptor and HMG-CoA reductase gene loci, lipid levels, statin response, and cardiovascular disease incidence in PROSPER. *Atherosclerosis.* 2008; 200(1): 109-114. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2007.12.004.

Ramet ME, Ramet M, Lu Q, Nickerson M, Savolainen MJ, Malzone A, et al. High-density lipoprotein increases the abundance of eNOS protein in human vascular endothelial cells by increasing its half-life. *J Am Coll Cardiol*. 2003; 41: 2288–2297.

Riwanto M, Rohrer L, Roschitzki B, Besler C, Mocharla P, Mueller M, et al. Altered activation of endothelial anti- and proapoptotic pathways by high-density lipoprotein from patients with coronary artery disease: role of high-density lipoprotein-proteome remodeling. *Circulation*. 2013; 127(8): 891-904. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.112.108753.

Riwanto M, Rohrer L, von Eckardstein A, Landmesser U. Dysfunctional HDL: from structure-function-relationships to biomarkers. *Handb Exp Pharmacol*. 2015; 224: 337-366. doi: 10.1007/978-3-319-09665-0_10.

Roest M, van Himbergen TM, Barendrecht AB, Peeters PH, van der Schouw YT, Voorbij HA. Genetic and environmental determinants of the PON-1 phenotype. *Eur J Clin Invest*. 2007; 37(3): 187-196.

Roman RM, Wendland AE, Polanczyk CA. Myeloperoxidase and coronary arterial disease: from research to clinical practice. *Arq Bras Cardiol*. 2008; 91(1): e11-9.

^aRosenblat M, Volkova N, Aviram M. Injection of paraoxonase 1 (PON1) to mice stimulates their HDL and macrophage antiatherogenicity. *Biofactors*. 2011; 37(6): 462–467.

^bRosenblat M, Volkova N, Ward J, Aviram M. Paraoxonase 1 (PON1) inhibits monocyte-to-macrophage differentiation. *Atherosclerosis*. 2011; 219(1): 49-56. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2011.06.054.

Rosenblat M, Elias A, Volkova N, Aviram M. Monocyte-macrophage membrane possesses free radicals scavenging activity: stimulation by polyphenols or by paraoxonase 1 (PON1). *Free Radic Res*. 2013; 47(4): 257–267.

Rosenson RS. Functional assessment of HDL: Moving beyond static measures for risk assessment. *Cardiovasc Drugs Ther*. 2010; 24(1): 71-75. doi: 10.1007/s10557-009-6214-3.

Rosenson RS, Brewer HB Jr, 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. doi: 10.1373/clinchem.2010.155333.

Rosenson RS, Brewer HB Jr, Davidson WS, Fayad ZA, Fuster V, Goldstein J et al. Cholesterol efflux and atheroprotection: advancing the concept of reverse cholesterol transport. *Circulation*. 2012; 125(15): 1905-1919. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.066589

Rosenson RS, Brewer HB Jr, Ansell B, Barter P, Chapman MJ, Heinecke JW, et al. Translation of high-density lipoprotein function into clinical practice: current prospects and future challenges. *Circulation*. 2013; 128: 1256–1267.

Rothblat GH, de la Llera-Moya M, Atger V, Kellner-Weibel G, Williams DL, Phillips MC. Cell cholesterol efflux: integration of old and new observations provides new insights. *J Lipid Res.* 1999; 40(5): 781-796.

Rothblat GH, Phillips MC. High-density lipoprotein heterogeneity and function in reverse cholesterol transport. *Curr Opin Lipidol.* 2010; 21(3): 229-238.

Ruggeri RB, Buckbinder L, Bagley SW, Carpino PA, Conn EL, Dowling MS, et al. Discovery of 2-(6-(5-Chloro-2-methoxyphenyl)-4-oxo-2-thioxo-3,4-dihydropyrimidin-1(2H)-yl)acetamide (PF-06282999): A Highly Selective Mechanism-Based Myeloperoxidase Inhibitor for the Treatment of Cardiovascular Diseases. *J Med Chem.* 2015; 58: 8513-8528. doi: 10.1021/acs.jmedchem.5b00963

Rütti S, Ehses JA, Sibler RA, Prazak R, Rohrer L, Georgopoulos S, et al. Low- and high-density lipoproteins modulate function, apoptosis, and proliferation of primary human and murine pancreatic beta-cells. *Endocrinology.* 2009; 150(10): 4521-4530.

Rye KA, Barter PJ. Predictive value of different HDL particles for the protection against or risk of coronary heart disease. *Biochim Biophys Acta.* 2012; 1821(3): 473-480. doi: 10.1016/j.bbali.2011.10.012.

Sasahara T, Nestel P, Fidge N, Sviridov D. Cholesterol transport between cells and high density lipoprotein subfractions from obese and lean subjects. *J Lipid Res.* 1998; 39(3): 544-554.

Schwartz GG, Olsson AG, Abt M, Ballantyne CM, Barter PJ, Brumm J, et al. Effects of dalcetrapib in patients with a recent acute coronary syndrome. *N Engl J Med.* 2012; 367(22): 2089-2099. doi: 10.1056/NEJMoa1206797.

Seres I, Paragh G, Deschene E, Fulop T, Khalil A. Study of factors influencing the decreased HDL associated PON1 activity with aging. *Exp Gerontol.* 2004; 39(1):59-66.

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): 2575-2585. doi: 10.1194/jlr.R035725.

Shao B, Oda MN, Bergt C, Fu X, Green PS, Brot N, et al. Myeloperoxidase impairs ABCA1-dependent cholesterol efflux through methionine oxidation and site-specific tyrosine chlorination of apolipoprotein A-I. *J Biol Chem.* 2006; 281: 9001–9004.

^aShao B, Oda MN, Oram JF, Heinecke JW. Myeloperoxidase: an oxidative pathway for generating dysfunctional high-density lipoprotein. *Chem Res Toxicol.* 2010; 23(3): 447-454. doi: 10.1021/tx9003775.

^bShao B, Tang C, Heinecke JW, Oram JF. Oxidation of apolipoprotein A-I by myeloperoxidase impairs the initial interactions with ABCA1 required for signaling and cholesterol export. *J Lipid Res.* 2010; 51: 1849–1858.

Shepherd J, Packard CJ, Patsch JR, Gotto AM Jr, Taunton OD. Effects of nicotinic acid therapy on plasma high density lipoprotein subfraction distribution and composition on apolipoprotein A metabolism. *J Clin Invest.* 1979; 63: 858–867.

Shih DM, Gu L, Xia YR, Navab M, Li WF, Hama S, et al. Mice lacking serum paraoxonase are susceptible to organophosphate toxicity and atherosclerosis. *Nature.* 1998; 394(6690): 284–287.

Shih DM, Xia YR, Wang XP, Miller E, Castellani LW, Subbanagounder Get al. Combined serum paraoxonase knockout/apolipoprotein E knockout mice exhibit increased lipoprotein oxidation and atherosclerosis. *J Biol Chem.* 2000; 275(23): 17527–17535.

Shih DM, Lusis AJ. The roles of PON1 and PON2 in cardiovascular disease and innate immunity. *Curr Opin Lipidol.* 2009; 20(4): 288-292. doi: 10.1097/MOL.0b013e32832ca1ee.

Shuhei N, Söderlund S, Jauhiainen M, Taskinen MR. Effect of HDL composition and particle size on the resistance of HDL to the oxidation. *Lipids Health Dis.* 2010; 9:104. doi: 10.1186/1476-511X-9-104.

Silvennoinen R, Escola-Gil JC, Julve J, Rotllan N, Llaverias G, Metso J, et al. Acute psychological stress accelerates reverse cholesterol transport via corticosterone-dependent inhibition of intestinal cholesterol absorption. *Circ Res.* 2012; 111(11): 1459–1469.

Simic B, Hermann M, Shaw SG, Bigler L, Stalder U, Dörries C, et al. Torcetrapib impairs endothelial function in hypertension. *Eur Heart J.* 2012; 33(13): 1615-1624. doi: 10.1093/eurheartj/ehr348.

Simon JS, Karnoub MC, Devlin DJ, Arreaza MG, Qiu P, Monks SA, et al. Sequence variation in NPC1L1 and association with improved LDL-cholesterol lowering in response to ezetimibe treatment. *Genomics.* 2005; 86: 648–656.

Sini S, Deepa D, Harikrishnan S, Jayakumari N. Evidence for an exclusive association of matrix metalloproteinase-9 with dysfunctional high-density lipoprotein: A novel finding. *Atherosclerosis.* 2014; 236: 162-168.

Smolen A, Eckerson HW, Gan KN, Hailat N, La Du BN. Characteristics of the genetically determined allozymic forms of human serum paraoxonase/arylesterase. *Drug Metab Dispos.* 1991; 19: 107-112.

Soran H, Schofield JD, Durrington PN. Antioxidant properties of HDL. *Front Pharmacol.* 2015; 6: 222. doi: 10.3389/fphar.2015.00222.

Sorci-Thomas MG, Thomas MJ. High density lipoprotein biogenesis, cholesterol efflux, and immune cell function. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2012; 32(11): 2561-2565. doi: 10.1161/ATVBAHA.112.300135.

Sorrentino SA, Besler C, Rohrer L, Meyer M, Heinrich K, Bahlmann FH, et al. Endothelial-vasoprotective effects of highdensity lipoprotein are impaired in patients with type 2 diabetes mellitus but are improved after extended-release niacin therapy. *Circulation.* 2010; 121: 110–122.

Speer T, Rohrer L, Blyszczuk P, Shroff R, Kuschnerus K, Kränkel N, et al. Abnormal high-density lipoprotein induces endothelial dysfunction via activation of Toll-like receptor-2. *Immunity.* 2013; 38(4): 754-768. doi: 10.1016/j.immuni.2013.02.009.

Stoekenbroek RM, Stroes ES, Hovingh GK. ApoA-I mimetics. *Handb Exp Pharmacol.* 2015; 224: 631-648. doi: 10.1007/978-3-319-09665-0_21.

Stremler KE, Stafforini DM, Prescott SM, McIntyre TM. Human plasma platelet-activating factor acetylhydrolase. Oxidatively fragmented phospholipids as substrates. *J Biol Chem.* 1991; 266: 11095–11103.

Stulc T, Ceška R, Gotto AM Jr. Statin Intolerance: the Clinician's Perspective. *Curr Atheroscler Rep.* 2015; 17(12): 69. doi: 10.1007/s11883-015-0552-3.

Suc I, Escargueil-Blanc I, Trolly M, Salvayre R, Negre-Salvayre A. HDL and ApoA prevent cell death of endothelial cells induced by oxidized LDL. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997; 17: 2158–2166.

Sugano M, Tsuchida K, Makino N. High-density lipoproteins protect endothelial cells from tumor necrosis factor-alpha-induced apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000; 272: 872–876.

Superko HR, Pendyala L, Williams PT, Momary KM, King SB, Garrett BC. High-density lipoprotein subclasses and their relationship to cardiovascular disease. *J Clin Lipidol.* 2012; 6(6): 496-523.

Tall AR, Yvan-Charvet L, Terasaka N, Pagler T, Wang N. HDL, ABC transporters, and cholesterol efflux: implications for the treatment of atherosclerosis. *Cell Metab.* 2008; 7: 365–375.

Tall AR, Yvan-Charvet L, Westerterp M, Murphy AJ. Cholesterol efflux: a novel regulator of myelopoiesis and atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2012; 32(11): 2547-2552. doi: 10.1161/ATVBAHA.112.300134.

Tamehiro N, Shigemoto-Mogami Y, Kakeya T, Okuhira K, Suzuki K, Sato R, et al. Sterol regulatory element-binding protein-2- and liver X receptor-driven dual promoter regulation of

hepatic ABC transporter A1 gene expression: mechanism underlying the unique response to cellular cholesterol status. *J Biol Chem.* 2007; 282: 21090–21099.

Tang WH, Hartiala J, Fan Y, Wu Y, Stewart AF, Erdmann J, et al. Clinical and genetic association of serum paraoxonase and arylesterase activities with cardiovascular risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2012; 32(11): 2803–2812.

Teiber JF, Draganov DI, La Du BN. Purified human serum PON1 does not protect LDL against oxidation in the in vitro assays initiated with copper or AAPH. *J Lipid Res.* 2004; 45(12): 2260–2268.

Temel RE, Tang W, Ma Y, Rudel LL, Willingham MC, Ioannou YA, et al. Hepatic Niemann-Pick C1-like 1 regulates biliary cholesterol concentration and is a target of ezetimibe. *J Clin Invest.* 2007; 117(7): 1968-1978.

Terasaka N, Westerterp M, Koetsveld J, Fernández-Hernando C, Yvan-Charvet L, Wang N, et al. ATP-binding cassette transporter G1 and high-density lipoprotein promote endothelial NO synthesis through a decrease in the interaction of caveolin-1 and endothelial NO synthase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010; 30(11): 2219-2225. doi: 10.1161/ATVBAHA.110.213215.

Teslovich TM, Musunuru K, Smith AV, Edmondson AC, Stylianou IM, Koseki M, et al. Biological, clinical and population relevance of 95 loci for blood lipids. *Nature.* 2010; 466(7307): 707-713. doi: 10.1038/nature09270.

Tietge UJ, Groen AK. Role the TICE?: advancing the concept of transintestinal cholesterol excretion. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2013; 33(7): 1452–1453.

Tomas M, Senti M, Garcia-Faria F, Vila J, Torrents A, Covas M, et al. Effect of simvastatin therapy on paraoxonase activity and related lipoproteins in familial hypercholesterolemic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000; 20: 2113–2119.

Tollefson JH, Ravnik S, Albers JJ. Isolation and characterization of a phospholipid transfer protein (LTP-II) from human plasma. *J Lipid Res.* 1988; 29(12): 1593-1602.

Trigatti B, Rigotti A, Krieger M. The role of the high-density lipoprotein receptor SR-BI in cholesterol metabolism. *Curr Opin Lipidol.* 2000; 11(2): 123-131.

Tumova E, Sun W, Jones PH, Vrablik M, Ballantyne CM, Hoogeveen RC. The impact of rapid weight loss on oxidative stress markers and the expression of the metabolic syndrome in obese individuals. *J Obes.* 2013; 2013: 729515.

Turner S, Voogt J, Davidson M, Glass A, Killion S, Decaris J, et al. Measurement of reverse cholesterol transport pathways in humans: in vivo rates of free cholesterol efflux, esterification, and excretion. *J Am Heart Assoc.* 2012; 1(4):e001826. doi: 10.1161/JAHA.112.001826.

Tward A, Xia YR, Wang XP, Shi YS, Park C, Castellani LW, et al. Decreased atherosclerotic lesion formation in human serum paraoxonase transgenic mice. *Circulation*. 2002; 106(4): 484–490.

Undurti A, Huang Y, Lupica JA, Smith JD, DiDonato JA, Hazen SL. Modification of high density lipoprotein by myeloperoxidase generates a pro-inflammatory particle. *J Biol Chem*. 2009; 284(45): 30825-30835. doi: 10.1074/jbc.M109.047605.

van Capelleveen JC, Bochem AE, Motazacker MM, Hovingh GK, Kastelein JJ. Genetics of HDL-C: a causal link to atherosclerosis? *Curr Atheroscler Rep*. 2013; 15(6): 326. doi: 10.1007/s11883-013-0326-8.

van der Hoogt CC, de Haan W, Westerterp M, Hoekstra M, Dallinga-Thie GM, Romijn JA, et al. Fenofibrate increases HDL-cholesterol by reducing cholesteryl ester transfer protein expression. *J Lipid Res*. 2007; 48: 1763–1771.

Van Linthout S, Foryst-Ludwig A, Spillmann F, Peng J, Feng Y, Meloni M, et al. Impact of HDL on adipose tissue metabolism and adiponectin expression. *Atherosclerosis*. 2010; 210(2): 438-444.

Vickers KC, Remaley AT. HDL and cholesterol: life after the divorce? *J Lipid Res*. 2014; 55(1): 4-12. doi: 10.1194/jlr.R035964.

Vila A, Korytowski W, Girotti AW. Spontaneous transfer of phospholipid and cholesterol hydroperoxides between cell membranes and low-density lipoprotein: assessment of reaction kinetics and prooxidant effects. *Biochemistry*. 2002; 41(46): 13705–13716.

Villines TC, Stanek EJ, Devine PJ, Turco M, Miller M, Weissman NJ, et al. The ARBITER 6-HALTS Trial (Arterial Biology for the Investigation of the Treatment Effects of Reducing Cholesterol 6-HDL and LDL Treatment Strategies in Atherosclerosis): final results and the impact of medication adherence, dose, and treatment duration. *J Am Coll Cardiol*. 2010; 55(24): 2721-2726. doi: 10.1016/j.jacc.2010.03.017.

Voight BF, Peloso GM, Orho-Melander M, Frikke-Schmidt R, Barbalic M, Jensen MK, et al. Plasma HDL cholesterol and risk of myocardial infarction: a mendelian randomisation study. *Lancet*. 2012; 380(9841): 572-580. doi: 10.1016/S0140-6736(12)60312-2.

^avon Eckardstein A. Implications of torcetrapib failure for the future of HDL therapy: is HDL-cholesterol the right target? *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2010; 8(3): 345-358. doi: 10.1586/erc.10.6.

^bvon Eckardstein A. Mulling over the odds of CETP inhibition. *Eur Heart J*. 2010; 31(4): 390-393. doi: 10.1093/eurheartj/ehp394.

- Wang HH, Portincasa P, Mendez-Sanchez N, Uribe M, Wang DQ. Effect of ezetimibe on the prevention and dissolution of cholesterol gallstones. *Gastroenterology*. 2008; 134(7): 2101-2110. doi: 10.1053/j.gastro.2008.03.011.
- Wang HH, Portincasa P, de Bari O, Liu KJ, Garruti G, Neuschwander-Tetri BA, et al. Prevention of cholesterol gallstones by inhibiting hepatic biosynthesis and intestinal absorption of cholesterol. *Eur J Clin Invest*. 2013; 43(4): 413-426. doi: 10.1111/eci.12058.
- Wang LJ, Wang J, Li N, Ge L, Li BL, Song BL. Molecular characterization of the NPC1L1 variants identified from cholesterol low absorbers. *J Biol Chem*. 2011; 286(9): 7397-7408. doi: 10.1074/jbc.M110.178368.
- Wang P, Wang Y, Ma W, Li H, Chen H. High-density lipoprotein cholesterol and intracoronary thrombosis burden. *Coron Artery Dis*. 2013; 24(1): 1-5. doi: 10.1097/MCA.0b013e32835aab80.
- Wang Y, Wang P, Li H. Correlation study of pulmonary embolism and high-density lipoprotein cholesterol. *Clin Cardiol*. 2010; 33(2): 72-76. doi: 10.1002/clc.20692.
- Wang W, Song X, Chen Y, Yuan F, Xu F, Zhang M, et al. The Long-Term Influence of Tissue Inhibitor of Matrix Metalloproteinase-1 in Patients with Mild to Moderate Coronary Artery Lesions in a Chinese Population: A 7-Year Follow-Up Study. *Cardiology*. 2015; 132: 151-158.
- Westerterp M, Murphy AJ, Wang M, Pagler TA, Vengrenyuk Y, Kappus MS, et al. Deficiency of ATP-binding cassette transporters A1 and G1 in macrophages increases inflammation and accelerates atherosclerosis in mice. *Circ Res*. 2013; 112(11): 1456-1465. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.113.301086.
- 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): 574-585. doi: 10.1194/jlr.D800028-JLR200.
- Williams KJ. Molecular processes that handle -- and mishandle -- dietary lipids. *J Clin Invest*. 2008; 118(10): 3247-59. doi: 10.1172/JCI35206.
- Viswambharan H, Ming XF, Zhu S, Hubsch A, Lerch P, Vergères G, et al. Reconstituted high-density lipoprotein inhibits thrombin-induced endothelial tissue factor expression through inhibition of RhoA and stimulation of phosphatidylinositol 3-kinase but not Akt/endothelial nitric oxide synthase. *Circ Res*. 2004; 94(7): 918-925.
- Yetukuri L, Huopaniemi I, Koivuniemi A, Maranghi M, Hiukka A, Nygren H, et al. High density lipoprotein structural changes and drug response in lipidomic profiles following the long-term fenofibrate therapy in the FIELD substudy. *PLoS ONE*. 2011; 6: e23589.

- Yin F, Lawal A, Ricks J, Fox JR, Larson T, Navab M, et al. Diesel exhaust induces systemic lipid peroxidation and development of dysfunctional pro-oxidant and pro-inflammatory high-density lipoprotein. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2013; 33(6): 1153-1161. doi: 10.1161/ATVBAHA.112.300552.
- Yu L, Hammer RE, Li-Hawkins J, Von Bergmann K, Lutjohann D, Cohen JC, et al. Disruption of Abcg5 and Abcg8 in mice reveals their crucial role in biliary cholesterol secretion. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002; 99(25):16237-16242.
- Yuhanna IS, Zhu Y, Cox BE, Hahner LD, Osborne-Lawrence S, Lu P, et al. High-density lipoprotein binding to scavenger receptor-BI activates endothelial nitric oxide synthase. *Nat Med.* 2001; 7: 853–857.
- Yunoki K, Naruko T, Inaba M, Inoue T, Nakagawa M, Sugioka K, et al. Gender-specific correlation between plasma myeloperoxidase levels and serum high-density lipoprotein-associated paraoxonase-1 levels in patients with stable and unstable coronary artery disease. *Atherosclerosis.* 2013; 231: 308-314.
- Zanotti I, Favari E, Bernini F. Cellular cholesterol efflux pathways: impact on intracellular lipid trafficking and methodological considerations. *Curr Pharm Biotechnol.* 2012; 13(2): 292-302.
- Zerrad-Saadi A, Therond P, Chantepie S, Couturier M, Rye KA, Chapman MJ, Kontush A. HDL3-mediated inactivation of LDL-associated phospholipid hydroperoxides is determined by the redox status of apolipoprotein A-I and HDL particle surface lipid rigidity: relevance to inflammation and atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2009; 29(12): 2169–2175.
- Zhang Y, Zanotti I, Reilly MP, Glick JM, Rothblat GH, Rader DJ. Overexpression of apolipoprotein A-I promotes reverse transport of cholesterol from macrophages to feces in vivo. *Circulation.* 2003; 108(6): 661-663.
- Zhang H, Jing X, Shi Y, Xu H, Du J, Guan T, et al. N-acetyl lysyltyrosylcysteine amide inhibits myeloperoxidase, a novel tripeptide inhibitor. *J Lipid Res.* 2013; 54: 3016-3029. doi: 10.1194/jlr.M038273.
- Zhang R, Brennan ML, Fu X, Aviles RJ, Pearce GL, Penn MS, et al. Association between myeloperoxidase levels and risk of coronary artery disease. *JAMA.* 2001; 286(17): 2136-2142.
- Zheng L, Nukuna B, Brennan ML, Sun M, Goormastic M, Settle M, et al. Apolipoprotein A-I is a selective target for myeloperoxidase-catalyzed oxidation and functional impairment in subjects with cardiovascular disease. *J Clin Invest.* 2004; 114(4): 529-541.
- Zheng W, Warner R, Ruggeri R, Su C, Cortes C, Skoura A, et al. PF-1355, a mechanism-based myeloperoxidase inhibitor, prevents immune complex vasculitis and anti-glomerular basement membrane glomerulonephritis. *J Pharmacol Exp Ther.* 2015; 353: 288-298. doi: 10.1124/jpet.114.221788.

10. Az értekezés alapjául szolgáló közlemények



DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR



Nyilvántartási szám: DEENK/293/2016.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

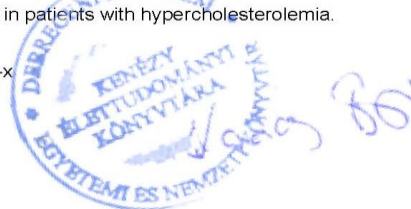
Jelölt: Zsíros Noémi
Neptun kód: DQUOC2
Doktori Iskola: Egészségtudományok Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Zsíros, N.**, Koncsos, P., Lőrincz, H., Seres, I., Katkó, M., Szentpéteri, A., Varga, V. E., Fülöp, P., Paragh, G., Harangi, M.: Paraoxonase-1 arylesterase activity is an independent predictor of myeloperoxidase levels in overweight patients with or without cardiovascular complications. *Clin. Biochem.* 49 (12), 862-867, 2016.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2016.03.011>.
IF: 2.382 (2015)
2. **Zsíros, N.**, Bodor, M., Varga, V., Berta, E., Balogh, I., Seres, I., Paragh, G., Harangi, M.: The c.-133A >G polymorphism in NPC1L1 gene influences the efficacy of ezetimibe monotherapy on apolipoprotein A1 in hyperlipidemic patients. *Pharmazie.* 69, 1-6, 2014.
IF: 1.052

További közlemények

3. Harangi, M., **Zsíros, N.**, Paragh, G.: Dyslipidaemiák kezelése: új lipidcsökkentő szerek. *Metabolizmus.* 14 (3), 160-163, 2016.
4. Varga, V. E., Lőrincz, H., **Zsíros, N.**, Fülöp, P., Seres, I., Paragh, G., Balla, J., Harangi, M.: Impact of selective LDL apheresis on serum chemerin levels in patients with hypercholesterolemia. *Lipids Health Dis.* 15 (182), 1-7, 2016.
DOI: <http://dx.doi.org/DOI 10.1186/s12944-016-0353-x>
IF: 2.137 (2015)



Cím: 4032 Debrecen, Egyetem tér 1. □ Postacím: 4010 Debrecen, Pf. 39. □ Tel.: (52) 410-443
E-mail: publikaciok@lib.unideb.hu □ Honlap: www.lib.unideb.hu



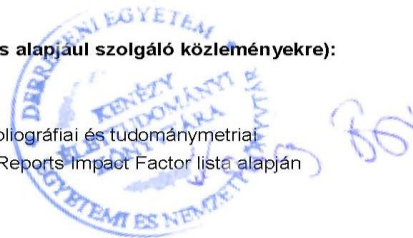
5. Varga, O., **Zsíros, N.**, Olsson, I. A.: Estimating the predictive validity of diabetic animal models in rosiglitazone studies.
Obes. Rev. 16 (6), 498-507, 2015.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/obr.12278>
IF: 7.51
6. **Zsíros, N.**, Paragh, G., Harangi, M.: Az emelkedett lipoprotein(a)-szint klinikai jelentősége és kezelési lehetőségei.
Orv. Hetil. 155 (16), 607-614, 2014.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/OH.2014.29877>
7. Berta, E., Harangi, M., **Zsíros, N.**, Nagy, E., Paragh, G., Bodor, M.: Effect of thyroid hormone status and concomitant medication on statin induced adverse effects in hyperlipidemic patients.
Pharmazie. 69, 420-423, 2014.
IF: 1.052
8. **Zsíros, N.**, Juhász, L., Paragh, G., Harangi, M.: Statin okozta mellékhatások kockázati tényezői hyperlipidaemiás betegeinkben.
Metabolizmus. 12 (3), 178-182, 2014.
9. Harangi, M., **Zsíros, N.**, Balla, J., Paragh, G.: Tapasztalataink a szelektív LDL-aferezis kezeléssel.
Metabolizmus. 12 (1), 19-23, 2014.
10. Harangi, M., **Zsíros, N.**, Paragh, G.: A myeloperoxidáz szerepe a szív- és érrendszeri betegségek kialakulásában.
Metabolizmus. 11 (1), 3-10, 2013.
11. 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: 14,133

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre): 3,434

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, 2016.11.03.



11. Tárgyszavak

Tárgyszavak: nagy sűrűségű lipoprotein, érlelmeszesedés, ezetimib, NPC1L1 polimorfizmus, paraoxonáz-1, mieloperoxidáz, túlsúlyos betegek

Keywords: high-density lipoprotein, atherosclerosis, ezetimibe, NPC1L1 polymorphism, paraoxonase-1, mieloperoxidase, overweight patients

Köszönetnyilvánítás:

Köszönettel tartozom Dr. Paragh György Professzor Úrnak, aki biztosította számomra a lehetőséget, hogy az általa vezetett DE Belgyógyászati Intézetben végezhessem tudományos munkámat.

Ezúton köszönöm témavezetőm, Dr. Harangi Mariann egyetemi docens szakmai irányítását és hasznos tanácsait tudományos munkám során, továbbá a vizsgálatok során nyújtott sokoldalú és áldozatkész segítségét.

Köszönetemet fejezem Dr. Seres Ildikó Tudományos Főmunkatársnőnek, aki a kutatási eredmények megvitatásában és statisztikai analízisében segítségemre volt. Szeretnék köszönetet mondani Dr. Balogh Istvánnak, aki a *NPCILI* genotípus meghatározást végezte, illetve Dr. Lőrincz Hajnalkának, aki a laboratóriumi munka során nyújtott sokoldalú segítséget. Köszönöm Dr. Bodor Miklós és Dr. Fülöp Péter egyetemi docensek, illetve Dr. Koncsos Péter a közlemények írásában nyújtott segítségét. Köszönettel tartozom Mozga Mária Gyöngyikének, Lénárt Ferencnének és Pap Magdolnának a vérvételek kivitelezéséért és az alapvető laboratóriumi módszerekben nyújtott segítségükért. Továbbá köszönetemet fejezem ki tudományos közleményeim társszerzőinek és a DE Belgyógyászati Intézet Kutatólaboratóriumában dolgozóknak és a Laboratóriumi Medicina Intézet Molekuláris Biológiai Részlegének munkatársainak, akik segítettek és támogatták munkámat.

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

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

12. Fűggelék