

EGYETEMI DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

**A szelektív LDL aferezis non-lipid hatásai súlyos heterozigóta
familiáris hiperkoleszterinémiás betegek esetén**

Varga Viktória Evelin

Témavezető: Dr. Harangi Mariann



DEBRECENI EGYETEM

EGÉSZSÉGTUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA

Debrecen, 2020

Tartalom

Rövidítésjegyzék.....	4
1. Bevezetés.....	7
2. Irodalmi áttekintés	8
2.1 Familiáris hiperkoleszterinémia (FH).....	8
2.2 A Familiáris hiperkoleszterinémia diagnosztikája és kezelési lehetőségei.....	11
2.2.1 A Familiáris hiperkoleszterinémia diagnosztikája	11
2.2.2 Gyógyszeres lipidcsökkentő kezelések	14
2.2.3 Lipoprotein aferezis technikák	17
2.3 A szelektív LDL-aferezis (non-lipid) pleiotróp hatásai	22
2.3.1 Citokinek és egyéb gyulladásozó fehérjék.....	22
2.3.2 Adipokinek és LDL aferezis	22
2.4 Pro- és anti-atherogén hormonszerű peptidek.....	23
2.4.1 Pro-atherogén peptidek: <i>Chemerin, Afamin, RBP4, PEDF, Visfatin, Leptin</i>	24
2.4.2 Anti-atherogén peptidek: <i>Adiponektin, Omentin-1, Vaspin, Obestatin</i>	30
3. Célkitűzések.....	35
4. Betegek és módszerek.....	36
4.1 Súlyos heterozigóta familiáris hiperkoleszterinémiás betegek kiválasztása.....	36
4.2 Vérvétel és laboratóriumi paraméterek mérése	37
4.3 LDL-aferezis	38
4.4 Szérum chemerin szint meghatározása.....	39
4.5 Fehérje frakció LDL-aferezist követő elúciója DALI 750 adszorbens oszlopról, és chemerin szint meghatározás az eluátumból	39
4.6 Szérum afamin szint meghatározása.....	39
4.7 Plazma α - és γ - tokoferol szint meghatározása.....	40
4.8 LDL- és HDL-koleszterin szubfrakciók vizsgálata	41
4.9 Adiponektin, leptin, vaspin, omentin-1, RBP4, PEDF, visfatin és obestatin és oxLDL szérum szintjének meghatározása.....	42
4.10 Statisztikai elemzés	42
5. Eredmények.....	44
5.1 Szelektív LDL aferezis kezelés hatása szérum chemerin szintekre	44
5.2 Szelektív LDL aferezis hatása szérum afamin és plazma E-vitamin szintekre	48
5.3 A szelektív LDL aferezis hatása további pro- és anti-atherogén hormonszerű peptidek szintjére	53
6. Az új eredmények összefoglalása.....	56

7. Megbeszélés	57
8. Összefoglalás	64
9. Summary	66
10. Irodalomjegyzék	68
11. Tárgyszavak	86
12. Köszönetnyilvánítás.....	87
12. Saját közlemények listája	89
13. Függelék	91

Rövidítésjegyzék

ACD:	savas citrát dextróz
ACS:	akut koronária szindróma
ADH:	autoszomális domináns hiperkoleszterinémia
ANOVA:	varianciaanalízis
ApoA1:	apolipoprotein A1
ApoB:	apolipoprotein B
ApoB100	apolipoprotein B100
ApoE:	apolipoprotein E
AT1R:	1-es típusú angiotenzin II receptor
CAD:	koronária betegség
CRP:	C-reaktív protein
CVD:	kardiovaszkuláris megbetegedés
DALI:	lipoproteinek direkt adszorpciója
DFPP:	dupla filtrációs plazmaferezis
DLCN:	Dutch Lipid Clinic Network kritériumrendszer
DNS:	dezoxiribonukleinsav
DSA:	dextrán szulfát-cellulóz adszorpció
ELISA:	enzimhez kapcsolt immunszorbens vizsgálat
EIA:	enzim immunvizsgálat
eNOS:	endoteliális nitrogén-monoxid szintetáz
EPC:	endotél progenitor sejtek
FDA:	Élelmiszer- és Gyógyszerbiztonsági Felügyelet
FH:	familiáris hiperkoleszterinémia
GC-MS:	gázkromatográfia-tömegspektrometria

HDL:	nagy sűrűségű lipoprotein
HDL-C:	nagy sűrűségű lipoprotein koleszterin
HeFH:	heterozigóta familiáris hiperkoleszterinémia
HELP:	heparin extrakorporális aferezis rendszer
HMDS:	hexametil-diszilán
HMGCoA:	3-hidroxi-3-metil-glutaril-koenzim-A
HoFH:	homozigóta familiáris hiperkoleszterinémia
ICAM-1:	intercelluláris adhézións molekula-1
ISZB:	iszkémiás szívbetegség
LDL:	alacsony sűrűségű lipoprotein
LDL-C:	alacsony sűrűségű koleszterin
LDLR:	alacsony sűrűségű lipoprotein receptor
LDLRAP1:	alacsony sűrűségű lipoprotein receptor adaptor protein 1
Lp(a):	lipoprotein (a)
MCP-1	monocita kemoattraktáns protein-1
MEDPED:	Make Early Diagnosis to Prevent Early Death kritériumrendszer
mRNS:	messenger ribonukleinsav
MTP:	mikroszomális triglicerid transzfer protein
NADPH-oxidáz:	nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát-oxidáz
NF- κ B:	nukleáris faktor- κ B
NK-cells:	természetes ölósejtek
NO:	nitrogén-monoxid
oxLDL:	oxidált alacsony sűrűségű lipoprotein
PAD:	perifériás artériás betegség
PAI-1:	plazminogén aktivátor inhibitor-1
PCSK9:	proprotein-konvertáz szubtilizin/kexin 9

PDGF:	vérlemezke eredetű növekedési faktor
PEDF:	pigment-epitélium eredetű faktor
RBP4:	retinol kötő protein 4
SBR:	Simon Broome regiszter
SD:	standard deviáció
SIM:	szelektív ionkövetés
STAP1:	jelátviteli adapter protein 1
T2DM:	kettes típusú diabetes mellitus
TG:	triglicerid
TIMP-1:	mátrix metalloproteináz-szöveti inhibitor
TMCS:	trimetil-klór-szilán
TMS:	trimetilszilil
TNF- α :	tumor nekrozis faktor- α
VCAM-1:	vaszkuláris sejtadhéziós molekula-1
VEGF:	vaszkuláris endoteliális növekedési faktor
VLDL:	nagyon alacsony sűrűségű lipoprotein
VSMC:	vaszkuláris simaizomsejtek

1. Bevezetés

Minden új terápiás eljárás esetén elvárjuk, hogy a hatékonyság mellett biztonságosan alkalmazható és jól tolerálható legyen azoknál a betegeknél, akiknél alkalmazzuk. Bár az új gyógyszerek és terápiás beavatkozások bevezetését megelőzően hosszadalmas és szigorúan ellenőrzött vizsgálatok sorát végzik el, mégis gyakori, hogy a bevezetésüket követően a klinikai alkalmazás során olyan új hatásokat írnak le, melyek eredetileg nem szerepeltek az alkalmazási előiratban. E hatások lehetnek kedvezőtlenek, például a statinok adása során észlelt fokozott kockázat a 2-es típusú diabetes mellitus (T2DM) kialakulása, de lehetnek kedvezőek is, melyek támogatják az adott szer vagy eljárás kedvező hatását az adott betegség lefolyása vagy szövődményeinek kialakulása szempontjából. Példa erre a statinok által kifejtett gyulladáscsökkentő vagy antioxidáns hatás, mely hozzájárul a statin kardiovaszkuláris kockázatcsökkentő hatékonyságához (1).

Munkám során azt vizsgáltam, hogy egy ritka, örökletes kórkép kezelése során alkalmazott extrakorporális terápiás eljárás, a szelektív alacsony sűrűségű lipoprotein (low-density lipoprotein, LDL) aferezis kezelés milyen további, az LDL részecskék eltávolításán túli hatást fejt ki a vizsgált betegek esetén. Ezek az adatok segíthetnek megérteni a kezelés során észlelt változásokat a betegek állapotában, de adalékkal szolgálhatnak a betegség patomechanizmusát illetően is, mely elősegítheti új terápiás lehetőségek kifejlesztését, ezáltal javíthatja az adott betegcsoport életminőségét és életkilátásait.

2. Irodalmi áttekintés

2.1 Familiáris hiperkoleszterinémia (FH)

A familiáris hiperkoleszterinémia (FH) egy gyakori, monogénes, autoszomális domináns öröklésmentet mutató anyagcsere betegség, mely során a keringésben jelenlévő LDL részecskék mennyiségét szabályozó génekben mutáció alakul ki. Az FH rendkívül magas plazma LDL-koleszterin (LDL-C), valamint összkoleszterin szinttel jár, ezáltal felgyorsult érlelmeszesedéshez és korai kardiovaszkuláris megbetegedés (CVD) kialakulásához vezet (2). Megközelítőleg húszszor magasabb a CVD kialakulásának kockázata kezeletlen FH betegek esetén az egészséges kontrollokéhoz képest. A betegséget először Müller írta le 1938-ban (3). Az FH-t elsősorban az LDL receptor (LDLR) gén mutációi, ezáltal az LDLR nem megfelelő működése vagy hiánya okozza. Az LDL receptor nem megfelelő működését és annak genetikai hátterét FH esetén először Goldstein és Brown írta le (4-6). Munkájukért 1985-ben Nobel-díjat kaptak.

Az FH homozigóta formája (HoFH) esetén két azonos mutáció van jelen mindegyik LDLR gén allélon, míg az FH heterozigóta formája (HeFH) esetén csak egy mutáns allél van. Összetett (compound) heterozigóta FH-ról beszélünk akkor, amikor legalább két, különböző mutáció van jelen az LDLR, vagy más, FH-t okozó génben (7). HoFH és compound HeFH esetén a plazma LDL-C szint 4-8-szor, míg HeFH esetén 2-3-szor magasabb lehet a normál értéknél (7). A kezeletlen homozigóta betegeknél jellemzően fiatal korban kialakul CVD, és sokan 20 éves koruk előtt meghalnak (8). A kezeletlen heterozigóták esetén is szignifikánsan magasabb az atheroszklerotikus kardiovaszkuláris betegség kialakulásának kockázata az egészséges kontrollokhoz képest, még akkor is, ha az LDL-C és az összkoleszterin szintjük alacsonyabb a homozigótáknál (9). A kezeletlen heterozigóta férfiak esetén jellemzően 55, míg a heterozigóta nők esetén 60 éves kor előtt kialakul CVD (10). A HoFH előfordulási

gyakorisága 1:1.000.000, míg a HeFH esetén 1:200-1:500, de egyes founder populációknál még nagyobb gyakorisággal fordul elő (10, 11). A HoFH betegek általában alig reagálnak a hagyományos gyógyszeres lipidcsökkentő kezelésekre, és sok HeFH szintén nem reagál megfelelően. Az emelkedett lipoprotein(a) (Lp(a)) szint - amely szintén a kardiovaszkuláris betegségek független kockázati tényezője - FH betegeknél gyakori (12), amely úgy tűnik, hogy az FH következménye, azzal együtt öröklődik. Az eddigi ismeretek az LDLR Lp(a) clearance-ben betöltött szerepével kapcsolatban ellentmondásosak (13). Feltételezhetően az FH esetén megfigyelhető apolipoprotein B (ApoB) túlermelődés lehet részben felelős az Lp(a) részecskék emelkedett szintjéért (12).

Az LDL részecskék fő apolipoproteinjükön, az ApoB-n keresztül kötődnek az LDLR-hoz. Ezt követően a receptor-ligand komplex internalizációja történik endocitózissal, klatrin burokkal körülvett vezikulumokban, amelyek ezután endoszomális kompartmentekbe szállítódnak. A savas környezet az LDLR/LDL-komplex disszociációját okozza, és az LDL részecske lebomlik a lizoszomális kompartmentben, az LDL receptor pedig visszakerül a sejtfelszínre. Amikor a májsejtekben a koleszterin koncentráció egy bizonyos szint alá esik, transzkripció faktorok aktiválják a 3-hidroxi-3-metil-glutaril-koenzim-A (HMGCoA) reduktázt, ezzel fokozott koleszterin szintézist és LDLR termelődést okozva, amely növeli a májsejtekbe történő koleszterin felvételt. A proprotein-konvertáz szubtilizin/kexin 9 (PCSK9) egy olyan peptid, amely LDL receptor sejtfelszínre történő visszakerülését akadályozza meg. A PCSK9 egy máj által szekretált szerin proteáz, amely az LDLR-hoz kötődik, ezáltal az LDL receptort a májsejten belül a lizoszomális degradáció felé irányítja, csökkentve ezzel a koleszterin felvételt a keringésből (14).

A klinikai FH esetek 85-90%-át LDLR mutációi okozzák, és az LDLR génnek eddig több mint 1700 mutációját írták le (15). Az LDLR gyakori mutációi közé tartoznak inszerciók, deléciónok, missense és nonsense mutációk, amelyek az LDLR útvonal fő lépéseit és a receptor

funkcióját befolyásolják. A gyakorlatban egyszerűbb két csoportba sorolni a mutációkat: LDL receptor deficiens- (null allélok, melyek nem termelnek LDL receptor proteint, <2% megmaradó receptor funkció) és LDL receptor defektív mutációk (gén variánsok, melyek funkciót érintenek, mint pl. az LDL ligand kötő doménnel való interakciót, 2%-25% megmaradó receptor funkció). Az FH fenotípus súlyossága a megmaradt LDLR aktivitás mértékétől függ (16, 17).

A klasszikus LDLR mutációk mellett további gének mutációi is ismertek, melyek az LDL receptor útvonalat kedvezőtlenül befolyásolják, és klinikai jellemzők alapján az FH-tól megkülönböztethetetlen ún. autoszomális domináns hiperkoleszterinémia (ADH) megjelenését eredményezik (17).

Az ApoB LDL-receptorral kölcsönhatásba lépő doménjének szerkezeti átrendeződése, melyet elsősorban az ApoB gén 26-os és 29-es exonjainak mutációi okoznak, zavarja az LDL részecske kötődését az LDL receptorhoz és megemelkedett LDL-C szinthez vezet, habár az emelkedés mértéke kisebb, mint az LDL receptor defektusok esetén. Az ApoB mutációja hozzávetőlegesen az FH esetek 5%-ában fordul elő (18).

A PCSK9-et kódoló gén specifikus mutációja is szerepet játszik az autoszomális-domináns hiperkoleszterinémia patogenezisében (19). Ezek a funkciónyerő f(gain of function) mutációk fokozzák a PCSK9 protein kötődését az LDL receptorhoz, zavarják az LDLR/LDL komplex disszociációját az endoszómákban, ezzel megakadályozzák a receptor visszakerülését a sejtfelszínre, fokozzák az LDL receptor degradációját, ezáltal csökkentik a májsejtek felszínén az LDL receptorok számát. A PCSK9 funkciónyeréses mutációi körülbelül az FH esetek 1%-ánál fordul elő (20).

Nemrégiben igazolódott egy újabb, a signal transducing adaptor family member 1 (STAP1) fehérjét kódoló gén mutációjának az oki szerepe (21).

Az 1p3-6-35 kromoszómán elhelyezkedő LDL receptor adaptor protein 1 (LDLRAP1) funkcióvesztéses (loss of function) mutációi által okozott autoszómális recesszív hiperkoleszterinémia az esetek nagyon kis százalékát okozza. Az LDLRAP1 fehérje szükséges az LDLR májsejtekbe történő klatrin-mediált internalizációjához. Az LDLRAP1 mutációk egy kicsi, nem funkcionális LDL receptor adapter protein 1 termeléséhez vezetnek, vagy megakadályozzák a sejteket abban, hogy ezt a fehérjét előállítsák, ezáltal megakadályozva az LDL receptorokat, hogy hatékonyan eltávolítsák az LDL-t a keringésből. Habár a receptorok így is szabályosan kötődnek az LDL-hez, az LDLRAP1 hiánya megakadályozza az LDL receptor/LDL komplex transzportját a sejtbe. A fenotípus többnyire kevésbé súlyos, mint a homozigóta FH, melyet az LDL receptor defektus okoz (22).

Az FH-t okozó génmutációk ritkán, de megjelenhetnek ugyanabban az egyénben olyan gének kombinációjával, amelyek csökkentik az LDL-C szintet a vártnál alacsonyabb LDL-C értékeket eredményezve (17, 23). A triglicerid (TG) és a nagy sűrűségű lipoprotein-koleszterin (high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C) szinteket általában nem befolyásolják az FH-t okozó génmutációk, de társuló egyéb kórképekben - például elhízás, T2DM, zsírmáj vagy inzulin rezisztencia - kevert hiperlipidémia is kialakulhat (24). Mindez nehezítheti a diagnózis felállítását a laboratóriumi paraméterek alapján.

2.2 A Familiáris hiperkoleszterinémia diagnosztikája és kezelési

lehetőségei

2.2.1 A Familiáris hiperkoleszterinémia diagnosztikája

A familiáris hiperkoleszterinémia azonosítása elsősorban klinikai diagnózis alapján történik, de indokolt esetben genetikai vizsgálatok elvégzése alátámaszthatja a diagnózist. Jelenleg több kritériumrendszer is létezik az FH klinikai diagnózisának felállítására. Ezek szempontjai a korai iszkémiás szívbetegség (ISZB) családi- és klinikai kórtörténete, fizikai tünetek:

xantómák, arcus corneae és a magas LDL-C szint, valamint - amennyiben rendelkezésre áll - molekuláris genetikai vizsgálat (25). A legtöbb európai országban, köztük Magyarországon is alkalmazott kritériumrendszer a Dutch Lipid Clinic Network (DLCN) (1. táblázat) is olyan pontozási rendszert alkalmaz az FH diagnosztizálására, amely ezeket a szempontokat veszi figyelembe. Ha a kapott pontszám >5 , a diagnózis valószínű FH, ha >8 , a diagnózis egyértelmű FH (26). A DLCN gyermekek esetén nem alkalmazható, illetve a már kezelt betegek esetén egy módosított kritériumrendszer használata lehetséges. A klinikumban széles körben alkalmazott diagnosztikai rendszer még a Simon Broome Register (SBR), melyet az Egyesült Királyságban alkalmaznak (27), és a főként az Egyesült Államokban használt Make Early Diagnosis to Prevent Early Death (MEDPED) kritériumrendszer (28).

1. táblázat: Dutch Lipid Network Kritériumrendszer* az FH klinikai diagnózisára

Kritérium	Pontszám
Családi anamnézis:	
első fokú rokonnál fiatal korban CAD vagy PAD	1
első fokú rokonokban ín xanthomák, vagy arcus corneae jelenléte	2
Anamnézis:	
nőknél 60 év alatt, férfiaknál 55 év alatt CAD	2
nőknél 60 év alatt, férfiaknál 55 év alatt stroke, vagy PAD	1
Fizikális vizsgálat:	
ín xanthomák jelenléte bármely életkorban	6
arcus corneae jelenléte 45 év alatt	4
Laborvizsgálatok:	
LDL-C >8,5 mmol/l	8
LDL-C 6,5-8,4 mmol/l	5
LDL-C 5,0-6,4 mmol/l	3
LDL-C 4,0-4,9 mmol/l	1
+ HDL-C és TG szint normális	
DNS analízis	
Kimutatható mutáció az LDL receptor ApoB vagy PCSK9 génjében	8

Biztos a diagnózis, amennyiben az elért pontszám magasabb, mint 8.

Valószínű: 6-8 pont

Lehetséges: 3-5 pont

*World Health Organization. Familial hypercholesterolemia—report of a second WHO Consultation. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 1999. (WHO publication no. WHO/HGN/FH/CONS/99.2), CAD: coronary artery disease, PAD: peripheral artery disease, LDL-C: low density lipoprotein cholesterol, HDL-C: high density lipoprotein cholesterol, TG: triglycerid, FH: Familial hypercholesterolemia

Legalább két éhgyomri LDL-C vizsgálat szükséges az FH diagnózisához, és a hiperkoleszterinémia esetleges másodlagos okait ki kell zárni. Az FH klinikai diagnózisával rendelkező betegek 10%-40%-ánál nem találnak azonosított mutációt a genetikai vizsgálat során. Fontos hangsúlyozni, hogy az azonosított mutáció hiánya nem zárja ki az FH diagnózisát (10).

2.2.2 Gyógyszeres lipidcsökkentő kezelések

Az FH-val diagnosztizált betegek minden esetben azonnali gyógyszeres kezelést igényelnek. A homo- és heterozigóta FH betegek első vonalbeli kezelését jelenleg a maximálisan tolerálható dózisú HMG-CoA reduktáz inhibitorok, a statinok jelentik (29). A statinok csökkentik a koleszterin szintézist, ezáltal fokozzák az LDLR sejtfelszíni expresszióját a májsejtekben (10). Hatékonysága a szív- és érrendszeri betegségek kialakulásának kockázatára, valamint halálozási arányára kifejtett kedvező hatása bizonyított mind gyermekkori (8-10 éves kor felett), mind felnőttkori heterozigóta FH esetén (30). Sajnos bizonyos esetekben a statin tartós szedése mellékhatások kialakulásához vezet (31). Leggyakoribb kedvezőtlen mellékhatása a myalgia (izomgyengeség, izomfájdalom), amely dóziszfüggő, és az egyes statinok között eltérő mértékű lehet (32). Mellékhatás észlelése esetén dóziscsökkentés, illetve másik statin készítmény adása indokolt. Amennyiben a beteg a legkisebb dózisú statin kezelést sem tolerálja, másnapenkénti, vagy akár heti egyszeri kis dózisú statin kezelés megkísérelhető (33). Amennyiben a maximálisan tolerálható dózisú statin kezelés mellett a beteg nem éri el a javasolt LDL-C célértéket, kombinált gyógyszeres terápia szükséges ezetimib, epesav szekvestránsok vagy niacin hozzáadásával. Szintén ezek a gyógyszerek jönnek számításba monoterápiaként vagy kombinációban, ha a beteg igazoltan és teljes mértékben statin intoleráns (34).

A legtöbb FH irányelv az ezetimibet javasolja második vonalbeli gyógyszeres kezelésként a statin mellé kombinációs terápiában alkalmazva (35). Az ezetimib szelektíven gátolja az intesztinális koleszterin felszívódásért felelős Niemann-Pick C1 Like 1 transzporter fehérjét (36). Ezáltal csökken a koleszterin visszaszállítása a májba, ami az LDLR fokozott expressziójához vezet. Az ezetimib a trigliceridek, zsírolékony vitaminok vagy epesavak abszorpciójának csökkentése nélkül gátolja meg a koleszterin felvételét és abszorpcióját a vékonybélben. Tanulmányok kimutatták, hogy az ezetimib statinnal való együttes

alkalmazása az LDL-C értékeket szignifikánsan csökkenti. Korábbi vizsgálatok alapján a statin dózis megduplázása 6%-os LDL-C csökkenéshez vezet, míg a statin ezetimibbel való alkalmazása 15%-20%-os vagy még nagyobb mértékű csökkenést eredményez (37).

Ha a statin plusz ezetimib kombinációval sem érhető el a kívánt célérték, a legtöbb irányelvben további lipidcsökkentőkkel (PCSK9 gátlók, epesav-kötők, niacin) való kombinálásuk javasolt. A PCSK9 gátlás egy új terápiás lehetőség (38). A PCSK9 elleni monoklonális antitestek kötődnek a PCSK9-hez és meggátolják a PCSK9/LDLR komplex képződését és lebontását, amely következtében az LDLR a sejtfelszínre visszajutva további LDL részecskék megkötésével csökkenti az LDL-C szintet. Az alirocumab és evolocumab humán monoklonális antitest PCSK9 inhibitorok 2015-ben történő engedélyezése ígéretes lehetőség a statin vagy statin plusz ezetimib terápiában részesülő HeFH és sok HoFH beteg további jelentős LDL-C csökkentésére, de a magas ár és az ártámogatás hiánya miatt jelenleg nem oldja meg a súlyos FH kezelését (7).

Az epesav kötők megakadályozzák az epesavak enterohepatikus újrafelvételét azáltal, hogy megkötik őket az intesztinális lumenen keresztül, ez epesav hiányt okoz a májban és további epesav termelésre ad jelet. Az intracelluláris koleszterin mennyisége csökken az epesavak szintézisével egy időben, amely megnövekedett LDLR termelést idéz elő. Ez azonban a keringésben lévő LDL-C fokozott eltávolításához vezet. Az epesav kötők dózistól függően 10-20%-al csökkentik az LDL-C szintet. A mellékhatásai közé tartozik a székrekedés, puffadás, hányinger és alhasi fájdalom. Az epesavkötők alkalmazhatóak a statin és ezetimib terápiával kombinálva. Előnyük, hogy terhesség során is alkalmazhatóak. Sajnos hazánkban jelenleg nincsenek kereskedelmi forgalomban (39).

A niacint már évtizedek óta használják LDL-C csökkentésre. Alkalmazásuk körülbelül 14%-os LDL-C csökkenést eredményez, és az Lp(a) szintjét is közel 25%-kal csökkenti. Emellett a triglicerid szint közel 50%-os csökkenését eredményezheti. A gyakori kedvezőtlen

mellékhatásai – kipirosodás, májfunkciós zavar, izomfájdalom, glükóz intolerancia és hiperurikémia –, és a hatékonyabb gyógyszeres kezelések elérhetősége miatt ritkán használják, és az újabb irányelvek már nem javasolják az alkalmazását (40).

2013 januárjában az Egyesült Államok Élelmiszer- és Gyógyszerügyi Hivatala (Food and Drug Administration, FDA) engedélyezte a HoFH felnőtt betegek kezelését mipomersennel. A mipomersen egy egyszálú antiszensz oligonukleotid, melynek célpontja az ApoB messenger ribonukleinsav (mRNS). Az mRNS transzlációjának gátlása következtében az ApoB szintézis csökken, ezáltal kevesebb nagyon alacsony sűrűségű lipoprotein (VLDL) szabadul fel a májból, így az LDL-C szint is csökken. A májban történő zsírfelhalmozódás a legsúlyosabb mellékhatás, amely a károsodott VLDL szekréció miatt alakul ki (41).

A lomitapid a mikroszomális triglicerid transzfer protein (MTP) működését gátolja. Használatát az Egyesült Államokban 2012 decemberében, Európában 2013 júliusában engedélyezték felnőtt HoFH betegek kezelésére. Az MTP egy olyan fehérje, amely a triglicerideket az ApoB-re helyezi, így fontos szerepet játszik a VLDL keletkezésében. A MTP gátlás során a VLDL szintézisének csökkenése egyben LDL-C csökkenést is eredményez. Az MTP végzi továbbá a trigliceridek apolipoprotein B48-hoz való kötését, így részt vesz a kilomikron képződésben is. Vizsgálatok kimutatták, hogy a lomitapid az LDL-C szintet 38-51%-kal csökkenti, és a legsúlyosabb mellékhatásai a megnövekedett zsírtartalom a májban és a megemelkedett aminoszferáz szintek (42).

Minden FH-val azonosított beteg esetén a gyógyszeres terápia minél korábbi megkezdése mellett szükséges az életmód tanácsadás, amely gyermekek esetén a további kockázati tényezők, elsődlegesen az elhízás kialakulásának megelőzése, későbbi életkorban a dohányzás elhagyása érdekében is kiemelkedően fontos. Tájékoztatni kell a betegeket a kórkép örökletes voltáról, a családtagok szűrésének fontosságáról és gyermekvállalás esetén a genetikai tanácsadás és szűrés lehetőségeiről.

2.2.3 Lipoprotein aferezis technikák

A koleszterin, LDL, Lp(a) és trigliceridek szelektív és szemiszelektív extrakorporális eltávolítására alkalmazott technikák bevezetésével az összes lipidcsökkentő terápiára rezisztens, vagy azzal szemben intoleráns súlyos hiperkoleszterinémias beteg hatékony lipidcsökkentő kezelése lehetővé vált. A szelektív lipid aferezis egy extrakorporális eljárás, amely szignifikánsan csökkenti az ApoB tartalmú lipoprotein részecskécsket, vagyis az LDL-koleszterin, az Lp(a) és a VLDL szintet. Jelenleg HoFH és olyan HeFH betegek kezelésére alkalmazzák, akik nem reagálnak megfelelően a maximálisan tolerálható gyógyszeres lipidcsökkentő terápiára vagy statin intoleránsak. Az aferezis kezelést maximálisan tolerálható statin és ezetimib dózissal javasolt kombinálni (43). Jelenleg a nemzetközi ajánlásokkal megegyezően (USA-ban: FDA) a következő betegcsoportokban javasolt az LDL-aferezis:

2. táblázat: Az LDL aferezis kezelés indikációi Magyarországon

Indikáció
Funkcionális FH homozigóta: LDL-C > 13 mmol/l
Funkcionális FH heterozigóta: LDL-C > 7,8 mmol/l
Funkcionális FH heterozigóta dokumentált ISZB-vel és LDL-C > 5,2 mmol/l

FH: Familial hypercholesterolemia, LDL-C: low-density lipoprotein cholesterol

Minden esetben az LDL-C szintnek 6 hónapon keresztül meg kell haladnia a meghatározott küszöbértéket, az ajánlások szerint alkalmazott diéta és a maximális tolerálható lipidcsökkentő gyógyszeres terápia mellett. Alternatív indikációt jelent, amennyiben heterozigóta FH betegekben a maximálisan tolerálható gyógyszeres lipidcsökkentő terápia mellett nem érhető el legalább 40%-os LDL-C csökkenés. További indikációt jelent a dokumentált ISZB mellett 60 mg/dl-t meghaladó Lp(a) szint, az alkalmazott gyógyszeres terápia ellenére is fennálló 4 mmol/l fölötti LDL-C szinttel. Sajnos a kezelés költsége miatt a

magyarországi éves kezelésszám igen alacsony. Többféle lipid aferezis módszer létezik, melyek általában az LDL-C szintek átlagosan 60%-os csökkenését eredményezik.

Nem szelektív módszer a plazmaferezis, amely során a plazmát a teljes vértől membránnal vagy centrifugálással elválasztják, és a testből eltávolítják. A plazmát albuminnal vagy friss, fagyasztott plazma készítménnyel helyettesítik (44). A plazmaferezis során eltávolított plazmát át lehet vinni egy második filteren, mely azután - szisztémás véralvadás gátlás mellett - visszajut a beteg keringésébe. Ezt double filtration plazmaferezisnek (DFPP) nevezik. Egyik módszer sem szelektív, és az LDL-en kívül kisebb arányban HDL-t, immunoglobulinokat, véralvadási faktorokat, fibrinolitikus faktorokat és az albumint is eltávolítja.

Termofiltráció során a plazmát 38 °C-ra melegítik a DFPP előtt, ami csökkenti az elveszített HDL, és növeli az eltávolított LDL mennyiségét (45).

Az immunoadszorpció, vagyis az LDL szelektív eltávolítása a plazmából anti-LDL antitestek segítségével volt az első alkalmazott szelektív LDL aferezis módszer, és immár több, mint 20 éve alkalmazzák. A rendszernek a része egy folyamatos áramlási sejt szeparátor, amely a plazmát keresztülpumpálja egy ikeroszlopon, amely szefaróz 4B gélhez kötött ApoB100 ellen termelt mono- vagy poliklonális antitesteket tartalmaz. Az oszlopokat glicin pufferrel regenerálják, és sóval mossák át egy automata adszorpciós-deszorpciós egység segítségével. Minden betegnek két oszlopa van kizárólagos használatra, melyet nátrium azid-ban tárolnak az eljárások között. Az alvadásgátlást heparinnal és savas citrát dextrózzal (ACD) érik el. A 3-4 órás kezeléseknél alkalmával 4-6 liter plazmát kezelnek. A kezelés az LDL-C és Lp(a) jelentős mértékű és tartós lecsökkenésével jár. Az oszlopokat újra felhasználják, akár 60 alkalmon keresztül (46). Létezik Lp(a) szelektív eltávolítására kifejlesztett specifikus rendszer is (47).

A dextrán szulfát-cellulóz adszorpció (DSA) során dextrán szulfátot tartalmazó cellulóz gyöngyökkel borított oszlopon áramlik keresztül az előzőleg vörös vérszuszpenzióval elválasztott

plazma. Az oszlop egy erősen szelektív elektrosztatikus folyamattal megköti az ApoB-t tartalmazó LDL-t, Lp(a)-t és VLDL-t, míg az ApoB-t nem tartalmazó HDL-t nem köti. Ez volt az első egyszer használatos LDL aferezis módszer (48). Szintén kereskedelmi forgalomban elérhető egy másik változata, a teljes vér lipoprotein aferezis rendszer, a Liposorber D (Kaneka, Japan). A Liposorber D teljes vérből adszorbeálja a pozitívan töltött LDL, Lp(a), VLDL részecskéket a negatívan töltött polianionok segítségével. Cellulózhoz kovalensen kötött negatív töltésű dextrán szulfátot tartalmaz (49).

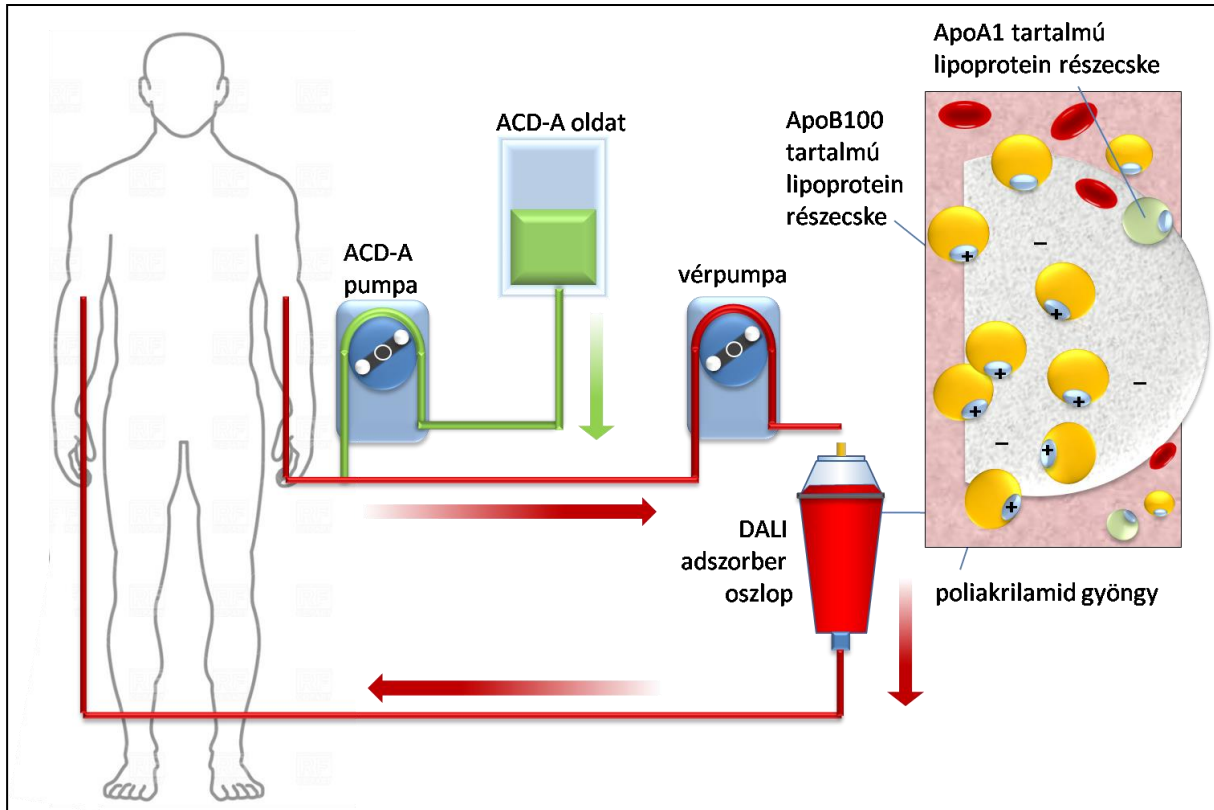
A heparin extrakorporális aferezis rendszer (HELP) hasonló a DSA-hoz, azzal a különbséggel, hogy LDL precipitációt alkalmaz, hogy kiszűrje az LDL-t a plazmából. Azt követően, hogy a teljes vértől előzetesen elválasztják, a plazmát átjuttatják egy heparin pufferen és pH 5,2-re savasítják. Ezen a pH-n a heparin főleg negatívan, míg az LDL főleg pozitívan töltött. Az eredő elektrosztatikus vonzás heparin-LDL komplexeket formál, amelyek kicsapódnak és szűréssel eltávolíthatók. A maradék heparint az LDL-mentes plazmából heparin adszorberrel eltávolítják, és a plazma visszakerül a betegbe (50). A HELP, a HDL és a domináns HDL apolipoprotein az apolipoprotein A1 (ApoA1) átmeneti, kb. 15%-os csökkenését okozza, de a plazmaferezissel ellentétben nem csökkenti a plazma fehérjét. A HELP módszerrel történő HDL-C csökkenés átmeneti, két napon belül a HDL-C értékek visszatérnek a kiindulási szintre. Sőt, néhány hónapnyi kezelést követően a HDL-C 10-15%-kal a kiindulási szint fölé emelkedik, lényegesen javítva a HDL/LDL arányt (51).

1993-ban Bosch először írta le az LDL hemoperfúziót (direct adsorption of lipoproteins – DALI) (52). Ebben a nagyon egyszerű extrakorporális rendszerben (1. ábra) a teljes vért keresztülpumpálják az adszorberben, amely poliakrilát gyöngy mátrixot tartalmaz. A kis 150-200 μm átmérőjű gyöngyök az adszorberben immobilizáltak. A gyöngyöknek porózus a szerkezete, amely lehetővé teszi a méret szerinti kizárásos kromatográfia elvének használatát, valamint nagy külső és belső felszín biztosít az adszorpcióhoz. A teljes, több mint 1000 m^2 -

es felszín több, mint 99%-a a gyöngyökön belül található. Csakúgy, mint az LDL receptor, a poliakrilát is negatívan töltött karboxilát csoportokat tartalmazó polianionokból áll. A polianionok kölcsönhatásba lépnek az LDL és az Lp(a) ApoB molekularészének kationos csoportjaival. Ennek az elektrokémiai kölcsönhatásnak köszönhetően ezek a lipoproteinek a gyöngyökön kikötődnek. A kisebb lipoproteinek könnyedén átjárnak a gyöngyök belső szivacs-szerű szerkezetét a pórusokon keresztül. A HDL szintén bejut a gyöngyökbe, de a töltéssel nem rendelkező ApoA1 tartalmú HDL nem kötődik a felszínhez, így nem tud eliminálódni. A koleszterin, LDL, Lp(a) és trigliceridek hatékony adszorpciójához az oszlop kapacitása 1,5-2,0 liter vérmennyiség. Az oszlop regenerálása nem szükséges, mivel az oszlopok egyszer használhatók. Ennek az egyszerű extrakorporális keringési rendszernek a működéséhez két perifériás vénás vérnyerési lehetőség elegendő, plazmaszeparációt nem igényel, monitorozása az afferens és efferens száron való vérnyomásméréssel történik. A véralvadásgátlás citrát tartalmú antikoaguláns citrát dextróz-A (ACD-A) oldattal történik. A lipoproteineken kívül a DALI rendszer a pozitívan töltött kalcium és magnézium ionokat is adszorbeálja. Ezért az oszlopokat át kell mosni először 4-6 liter primer oldattal, amely ezeket az elektrolitokat tartalmazza. Az adszorber ezáltal telítődik ezekkel a kationokkal, így megelőzhető a hipokalcémia és hipomagnezémia kialakulása a kezelés alatt. A DALI rendszer három különböző adszorber méretben létezik: DALI 500, 750 és 1000 ml-es adszorberek vannak forgalomban. Miután az adszorberen áthaladt, az ApoB tartalmú lipoproteinekben szegény vér visszakerül a betegbe. A rendszer előnye, hogy szelektív, nagy hatékonyságú, jól tolerálható és egyszerű az alkalmazása.

A mellékhatások kialakulása ritka, egyéb extrakorporális eljárásokhoz hasonlóan az esetek kevesebb, mint 4%-ában alakulhat ki főként enyhe, jól kezelhető vérnyomás ingadozás, a vérnyerés helyén bevérzés, hipokalcémia vagy hipomagnezémia. Kellemetlen, de többnyire múló tüneteket okozhat a bradikinin reakció, melynek lehetősége miatt a betegek a bradikinin

lebontását is blokkoló angiotenzin-konvertáló enzim gátló vérnyomáscsökkentők szedése ennél az eljárásnál tilos (53).



1. ábra: A DALI szelektív LDL-ferezis rendszer sematikus ábrázolása. Rövidítések: ACD-A: savas citrát dextróz-A, DALI: direct adsorption of lipoproteins, ApoB100: apolipoprotein B100, ApoA1: apolipoprotein A1

2.3 A szelektív LDL-aferezis (non-lipid) pleiotróp hatásai

A szelektív LDL aferezis elsődleges lipid csökkentő hatásán túl számos további anti-atherogén, antitrombotikus és anti-inflammatorikus hatásáról számoltak már be. A kezelések szintén csökkentik számos pro- és anti-inflammatorikus fehérje és citokin szintjét is.

2.3.1 Citokinek és egyéb gyulladásozó fehérjék

Korábbi tanulmányok igazolták, hogy az LDL aferezis kezelés jelentősen képes befolyásolni számos keringő citokin szérúm szintjét. Míg az interleukin-6 szintje szignifikánsan nő, a C-reaktív protein (CRP) szint jelentősen csökken a kezelés hatására (54). Jelentős csökkenést észleltek a monocita kemotaktikus fehérje-1 (MCP-1), az interferon- γ , a tumor nekrozis faktor- α (TNF- α) és az interleukin-1 α szintekben (55). Mindezek alapján az LDL aferezis összességében kedvező hatást gyakorolhat a gyulladásozó folyamatokra, bár az alkalmazott módszerektől és a betegpopulációtól függően a hatás eltérő lehet.

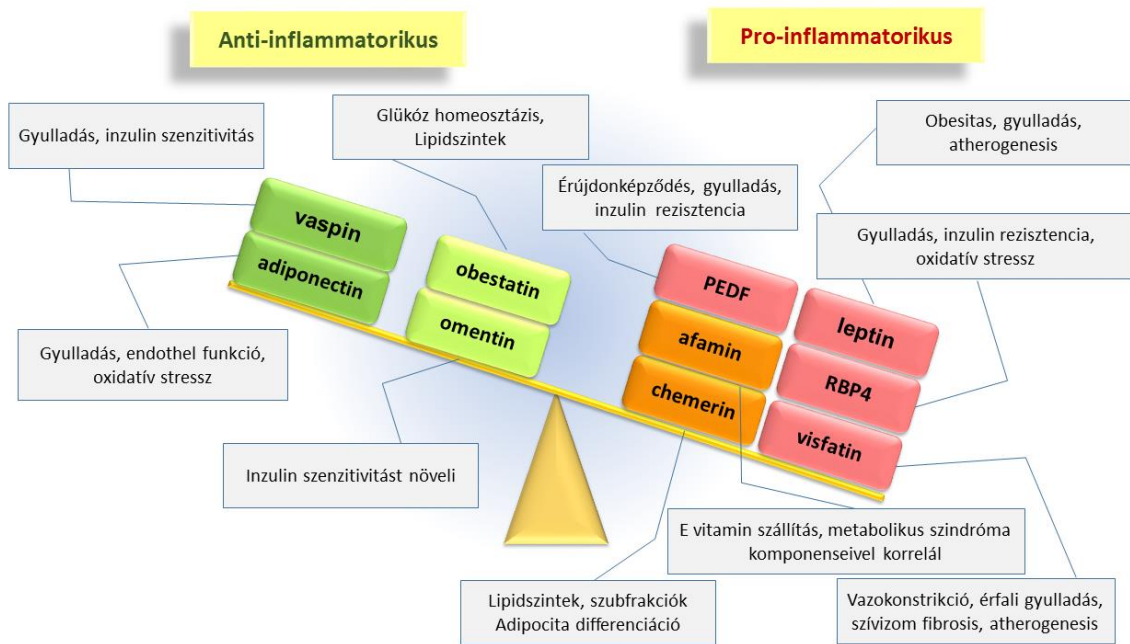
2.3.2 Adipokinek és LDL aferezis

Elsődlegesen a fehér zsírszövet által termelt adipo(cito)kinek alapvető szerepet játszanak számos folyamat, köztük a lipid és glükóz metabolizmus szabályozásában, továbbá részt vesznek a gyulladásozó és immunfolyamatok szabályozásában és ezáltal az atherogenezis folyamataiban is. A pro- és anti-inflammatorikus adipokinek szekréciós mintázata tükrözheti a fehér zsírszövet funkcióját és az atherogenezis egyéni kockázatát. Eddig csak néhány tanulmány vizsgálta a szelektív LDL aferezis hatását az adipokin szintekre. Leitner és munkatársai egy beteg 14 hónapos rendszeres LDL aferezis kezelését követően a szérúm leptin szintek 42%-os csökkenését írták le, ezzel magyarázva az azt követően megfigyelt

nagymértékű éhséget és testsúly növekedést (56). Krautbauer és munkatársai nem találtak változást a szérumban adiponektin szintekben LDL aferezist követően (57). Egy másik tanulmány során az LDL aferezis kezelése nem volt hatással a resistin és adiponektin szintekre (54). Eddig az irodalomban nem áll rendelkezésünkre adat az LDL aferezis hatásáról a szérumban adipokinnal, mint például a chemerin, visfatin, retinol binding protein 4 (RBP4), pigment-epithelium derived factor (PEDF), omentin-1, vaspin és obestatin szintekre.

2.4 Pro- és anti-atherogén hormonszerű peptidok

A szervezet szinte minden szerve és szövete, köztük a fehér zsírszövet, a máj, az emésztőszervek számos olyan peptidet termelnek, melyek közvetve vagy közvetlenül szintén befolyásolják az érlemezés folyamatát. Ezek közül egyesek döntően az érlemezést elősegítő (pro-atherogén), mások azt gátló (anti-atherogén) hatást fejtenek ki, bár az atherogén tulajdonság bizonyos betegségekben vagy gyulladásos folyamatokban megváltozhat (2. ábra).



2. ábra: A vizsgált pro-és anti-inflammatorikus peptidek potenciális szerepe a gyulladásos folyamatok és az érlemezés kialakulásában. Rövidítések: PEDF: pigment-epithelium derived factor, RBP4: retinol binding protein 4

2.4.1 Pro-atherogén peptidek: *Chemerin, Afamin, RBP4, PEDF, Visfatin, Leptin*

Chemerin

A chemerin elsősorban a fehér zsírszövetben, májban, vesében, bőrben és a bélben expresszálódik (58). Szabályozza az adipogenezist, az adipocita metabolizmust és a lipolízist, valamint az adipocita differenciációt (59). Receptora különböző gyulladásos sejtek felszínén, makrofágokon, éretlen dendritikus sejteken és természetes ölősejteken (natural killer cells-NK cells) is expresszálódik, ezzel indukálva migrációjukat a gyulladás helyszínére (60). Továbbá a keringésben jelen lévő chemerin részt vesz a lipid és glükóz metabolizmus szabályozásában (61). Mindezek alapján a chemerin feltételezhetően hozzájárul az obezitás, inzulin rezisztencia és metabolikus szindróma kialakulásához (62). Habár a chemerin anti-inflammatorikus hatásáról szintén beszámoltak már, egyre több a bizonyíték arra, hogy a chemerin inkább proinflammatorikus hatású peptid (63, 64). Ezek alapján a chemerin szerepet játszhat az

atherogenezis folyamatában. Korábban szignifikáns korrelációkat mutattunk be a szérumban a chemerin szint és a különböző lipoprotein szubfrakciók között elhízott, nem diabéteszes betegek esetén (65). A keringésben lévő chemerin szintek pozitívan korreláltak az LDL-C szintekkel, míg fordított korreláció állt fenn a chemerin és a HDL-C szintek között. Továbbá szignifikáns pozitív korrelációt találtunk a szérumban a chemerin szint és a kis denz LDL, a közepes és kis HDL szubfrakciók között. Másrészt negatív korrelációt találtunk a chemerin szintek és az átlagos LDL méret és nagy HDL szubfrakciók között. Az eredmények alapján arra a következtetésre jutottunk, hogy a chemerin kedvezőtlenül hathat a lipoprotein metabolizmusra.

Afamin és E-vitamin

A humán afamin egy szérumban glikoprotein, az albumin géncsalád tagja (66). Az afaminról kimutatták, hogy E-vitamin specifikus kötőhellyel rendelkezik, mely a testfolyadékokban az E-vitamin szállításáért lehet felelős (67). Az afamin elsősorban a májban expresszálódik és a véráramba szekretálódik, ahol részben ApoA1 tartalmú HDL szubfrakciókhoz asszociálódik (68). A szabadgyökök fontos szerepet játszanak az atheroszklerózis kialakulásában. Az antioxidánsok, amelyek meggátolják az LDL és HDL oxidációját, alkalmasak lehetnek az atheroszklerózis és a hozzá kapcsolódó betegségek megelőzésére. Az antioxidánsok közül az E-vitamin vizsgálata a legintenzívebb. Bár az E-vitamin pótlás hatását tekintve különböző eredményeket mutatott, mégis az E-vitamin feltételezetten hasznos a koszorúér-betegség és az atheroszklerózis megelőzésében és/vagy kezelésében magas kockázatú betegeknél alkalmazva (69). Számos előző vizsgálat során a szérumban a E-vitamin szint szignifikánsan csökkent LDL aferezist követően (70-72).

RBP4

A retinol binding protein 4 (RBP4) egy, a fehér zsírszövet által is termelt plazma retinol transzporter, amely a retinolt a májból a perifériára szállítja (73). Túltermelődése kiváltja zsírszövet inflammációját mind az adaptív, mind a veleszületett immunválasz stimulálásán keresztül (74). A keringésben lévő RBP4 meggátolja a vázizomban az inzulin által stimulált jelátviteli utakat inzulin rezisztencia kialakulásához vezetve. Számos tanulmány emelkedett RBP4 koncentrációkat írt le obezitás, mint krónikus gyulladós állapot, valamint annak szövődményei, T2DM, metabolikus szindróma és kardiovaszkuláris megbetegedés esetén (75-81). A közelmúltban leírták, hogy az RBP4 szerepet játszhat a szív- és érrendszeri betegségek kialakulásában, azonban a szerepe, mint a gyulladós folyamatok markere és a CVD prediktora jelenleg nem tisztázott, mivel a klinikai vizsgálatok eredményei ellentmondásosak. Kontroll személyekhez képest a keringésben magasabb RBP4 koncentrációkat írtak le azoknál a betegeknél, akiknél előzőleg klinikai atheroszklerózist, magas fokú karotid sztenózist, dilatatív kardiomiopátiát, koszorúér-betegséget és előrehaladott szívelégtelenséget figyeltek meg (82-87). Más vizsgálatok azonban nem mutattak szignifikáns különbséget az RBP4 koncentrációkban a koszorúér-betegségben szenvedő betegek és az egészséges személyek között (88, 89). Az RBP4 és az oxidatív stressz markerek közötti kapcsolat kevésbé ellentmondásos. A legtöbb tanulmány pozitív összefüggést írt le az RBP4 és az oxidatív stressz markerek között, valamint negatív összefüggést az RBP4 és az antioxidáns glutation között. A sejtes oxidatív stressz a vaszkuláris gyulladás aktiválásához vezet. Mivel az RBP4 pozitív összefüggést mutat az oxidatív stressz markerekkel (90), így szerepe lehet az endoteliális gyulladási folyamatok beindításában.

PEDF

A pigment-epithelium derived factor (PEDF) egy endogén 50 kDa méretű, számos sejt által expresszált glikoprotein, amely a szerin proteáz inhibitorok családjába tartozik (91). A PEDF a vaszkuláris endoteliális növekedési faktor (VEGF) és receptorainak módosítása által fejt ki az érzékelést gátló hatását (92). Famulla és munkatársai leírták, hogy a PEDF az adipociták által egyik legnagyobb mennyiségben szekretált adipokin, amely részt vesz az inzulin rezisztencia, a diabétesz és az obezitással összefüggő rendellenességek kialakulásában (93). Rekombináns PEDF aktiválja a makrofágokat, amelyek TNF- α -t és interleukin-1-et szabadítanak fel. A PEDF adipóz triglicerid lipáz-függő módon (94) elősegíti a lipolízist, és szabad zsírsavakat mozgósít a szisztémás keringésbe, ezzel gyulladáshoz és rendellenes lipid lerakódáshoz vezetve. Továbbá a PEDF beindítja a Ser/Tyr foszforilációs kaszkád gátló sorát, ezáltal csillapítja az inzulin jelátvitelt, és a perifériális szövetekben inzulin rezisztenciát indukál (95). Hatása a kardiovaszkuláris rendszerre eddig nem teljes mértékben tisztázott. Az akut koronária szindrómás (ACS) betegeknek alacsonyabb a szérumban PEDF szintjük, és az alacsony PEDF szintek ACS után is a kedvezőtlen kimenetellel függenek össze (96). A PEDF képes meggátolni az elzáródásos trombus képződést a vérlemezke aktiválás és aggregáció gátlásán keresztül (97). A PEDF szintén gátolni tudja a platelet derived growth factor (PDGF) -indukált simaizomsejt proliferációt és migrációt (98). A PEDF-nek erős anti-inflammatorikus hatása van, hatására a gyulladási faktorok, köztük az MCP-1 és TNF- α csökkentek a retinális extraktumokban (99), szérumban és patkány retinális Müller sejtekben (100). Wen és munkatársai leírták, hogy a PEDF védő szerepet játszik az atheroszklerotikus plakk stabilitásának növelésében a makrofág gyulladásának javításán keresztül (101).

Visfatin

A visfatin kifejezés a viscerális zsírra utal, mivel kezdetben feltételezték, hogy a visfatin főként a viscerális zsírszövetben szintetizálódik (102). Később hasonló visfatin szinteket írtak le a humán és egér szubkután zsírszövetben, mint a viscerális zsírszövetben. A visfatin más zsírraktárakban is, például a perivaszkuláris és epikardiális zsírban is megtalálható. A fehér zsírszöveten belül a visfatint nem csupán az adipociták szintetizálják, hanem a gyulladásosejtek, például az aktivált makrofágok is (103). Számos vizsgálat írt le pozitív összefüggést a keringésben lévő visfatin szintek és az atherogén gyulladásosejti betegségek között. Az utóbbi években a visfatint, mint az atheroszklerotikus folyamatok kezdeti és meghatározó lépésének (104), az endoteliális diszfunkciónak a markereként említik (105). A visfatin kiemelkedik, mint az atheroszklerotikus léziók kialakulásának és progressziójának résztvevője a simaizomsejtek osztódásának közvetlen serkentésén keresztül (106). Fokozza az extracelluláris mátrix degradációján keresztül az angiogenezist beindító mátrix metalloproteinázok szintjét és aktivitását (107), és csökkenti azok szöveti inhibitorainak szintjét. Egyre több a bizonyíték arra, hogy a visfatin közvetlenül elősegíti a vaszkuláris gyulladást különböző sejttípusok, beleértve endotél sejteket és vaszkuláris simaizomsejtek aktiválásán keresztül. A visfatin proinflammatorikus citokinek, mint pl. a TNF- α , interleukin-8 szintézisét és felszabadulását váltja ki (108). Továbbá elősegíti a makrofágok túlélését, amely segíthet a vaszkuláris gyulladás fenntartásában (103, 109).

Leptin

A leptin elsődlegesen adipociták által termelt 16 kDa méretű fehérje (110), amely szabályozza az energia egyensúlyt és az anyagcserét mind a központi, mind a perifériális idegrendszerben. Először az ob gén termékeként azonosították ob/ob egérben (111). A leptin a perifériás és központi szövetekre hatását receptorához (Ob-R) kötődve fejeti ki. Receptorát elsődlegesen a

dorzomediális és ventromediális hipotalamikus sejtmagokban találták meg (112), ahol a táplálékfelvétel szabályozásában játszik szerepet. Fokozza az anyagcserét, és csökkenti az éhségérzetet, ezáltal fokozza az energiafelhasználást, és csökkenti az energia bevitelt. Érdekes módon, elhízott egyéneknél a leptin anorexián hatása romlik, míg más hatásai fennmaradnak, ez a jelenség szelektív leptin rezisztencia néven ismert (113).

A leptin plazma szintje pozitívan korrelál a fehér zsírszövet tömegével. A receptorát később szintén megtalálták számos perifériális szövetben, köztük a fehér zsírszövetben, vázizomsejtekben, a májban, hasnyálmirigy β sejtekben, mononukleáris fehérvérsejtekben és endotélsejtekben. A leptint az adipocitákon kívül más sejtek, mint például a szívizomsejtek, endotélsejtek és a vaszkuláris simaizomsejtek (VSMC) is termelik, így széles körű, pleiotróp hatásokkal rendelkezik, befolyásolva, a szív- és ér-, ideg-, immun- és reprodukciós rendszert.

A kardiovaszkuláris rendszerben az erek és a szívizomsejtek expresszálják a specifikus leptinreceptorot, melynek hatásai potenciálisan pro-atherogének, protrombotikusak és angiogének. A hiperleptinémia összefügg a nitrogén-monoxid (NO)-függő vazorelaxáció károsodásával, az oxidatív stressz növekedésével, valamint az endotelin szint növekedésével (114), mindezek az endotél diszfunkciónak, az atherogenezis első lépésének a markerei.

Leírták, hogy a leptin növeli a nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfat-oxidáz (NADPH-oxidáz) expresszióját és aktivitását (115, 116). Ezen kívül növeli az 1-es-típusú angiotenzin II receptor (AT1R) expresszióját simaizomsejtekben (117).

Az atheroma kialakulásának kezdeti szakaszában a leptin kulcsszerepet játszik a gyulladásos folyamatokban. Növeli a TNF- α , az interleukin-6 és az MCP-1 gyulladásos molekulák szekrécióját (118). Szintén növeli az adhéziós molekulák, például a vaszkuláris sejtadhéziós molekula-1 (VCAM-1) (119), az intercelluláris sejtadhéziós molekula-1 (ICAM-1) (120) és az E-szelektin (121) expresszióját, ezzel kedvezve a monociták vonzásának és az endoteliális falon keresztüli vándorlásának. Az atheroma kialakulásakor a leptin szerepet játszik a

simaizom sejtek növekedésében és migrációjában is. A leptin protrombotikus állapotot is indukál, miután fokozza a vérlemezék aktiválódását és aggregálódását (122), trombusképződést és plazminogén aktivátor inhibitor-1 (PAI-1) expressziót (123).

A leptin az atheroszklerózis kialakulásában is szerepet játszik, melyhez a vaszkuláris simaizom és endotél sejtek proliferációjának és vándorlásának elősegítésével járulhat hozzá, ezáltal a neointima növekedését indukálva. A leptin továbbá neointimális növekedéshez vezet a vérlemezke-aggregáció stimulálásával, a monociták aktiválásával és az immunválasz szabályozásával. Ez makrofágok és limfociták adhéziójához, valamint lipid lerakódásához vezet a véredényben.

2.4.2 Anti-atherogén peptidok: *Adiponektin, Omentin-1, Vaspin, Obestatin*

Adiponektin

Az adiponektin egy, elsősorban a zsírszövet által szekretált, 30 kDa nagyságú protein (124), amelynek legalább két receptora van, az AdipoR1 és AdipoR2 (125). Az adiponektin szintekről leírták, hogy fordítottan korrelálnak az obezitással a viscerális zsír eloszlással, T2DM-al és más obezitással összefüggő betegségekkel (126-128). Fontos kapcsolat van az adiponektin és az inzulinrezisztencia, valamint atheroszklerózis kialakulása között (129, 130). Feltételezett, hogy az adiponektin fokozza az inzulinérzékenységet (131), és csökkenti az atheroszklerózis kockázatát. Az adiponektinnek továbbá anti-inflammatorikus és antiapoptotikus tulajdonságai is vannak.

Klinikai vizsgálatokban az adiponektin függetlenül és negatívan korrelált a metabolikus szindróma „jellemzőivel”, beleértve az inzulin rezisztenciát, testtömeget, vérnyomást és szérum lipid szinteket (127, 132). Mind állatmodelleket, mind in vitro vizsgálatokat alkalmazó tanulmányok igazolták az adiponektin többszörösen kedvező hatását a kardiovaszkuláris rendszerre, a szív- és az érrendszeri sejtekre kifejtett, közvetett és közvetlen

hatásán keresztül. Számos lépést befolyásolhat az atheroma kialakulásában, az endotél diszfunkciótól a plakk-ruptúráig. Kimutatták, hogy az adiponektin gátolja az endotélium VCAM-1, ICAM-1 és E-szelektin expresszióját (133, 134), a leukocita migráció kezdeti fázisát az artériás falon keresztül. Az adiponektin képes megváltoztatni a makrofág fenotípust (135) aktivált makrofágról anti-inflammatorikus fenotípusra, megakadályozva annak habos sejtté alakulását. Ezen kívül, csökkentheti az intracelluláris koleszterin-észter tartalmát, a TNF- α termelést, és stimulálhatja az interleukin-10 termelődését, így anti-inflammatorikus tulajdonságokkal rendelkezik. Kimutatták, hogy az adiponektin képes növelni a metalloproteináz 1 (TIMP-1) szöveti inhibitorának expresszióját (136), védve a plakk sérülése és a trombózis események ellen.

Az adiponektin AMP-aktivált protein-kináz (AMPK) által közvetített endoteliális nitrogén-monoxid szintáz (eNOS) aktivációt kezdeményez (137), ami NO termeléshez vezet.

Az AdipoR-k vérlemezkékben expresszálódnak. Az emberi vérlemezkéken végzett in vitro vizsgálatok azt mutatták, hogy az adiponektin gátolja a trombocita aggregációt kollagén indukciót követően.

Az adiponektin egy másik fontos funkciója a gyulladáscsökkentő hatás (138, 139), amely az AMPK-t és más nem-AMPK-mechanizmusokat aktiváló hatásának tulajdonítható. Ez az NF- κ B gátlásához vezet, és következésképpen csökkenti az adhéziós molekulák expresszióját (140, 141) és az interleukin-8 felszabadulását TNF- α stimuláció után.

Omentin-1

Az omentin-1 egy 38-40 kDa méretű adipokin (131), melyet elsődlegesen a viscerális zsírszövet termel és túlnyomórészt az adipóz szövet sztróma vaszkuláris frakciója expresszál. Obezitás esetén az omentin-1 szint csökken a viscerális zsírszövetben és a plazmában (143, 144). A keringésben lévő omentin-1 szint pedig pozitívan korrelál az inzulinérzékenységgel,

valamint az alacsony omentin-1 szint összefügg a glükóz intoleranciával (145). Az omentin-1-et eredetileg szolubilis galaktofuranóz-kötő lektinként azonosították. Leírták, hogy in vitro fokozza a humán adipociták inzulin stimulált glükóz felvételét az Akt jelátviteli útvonalon keresztül (145). Továbbá leírták, hogy omentin-1-gyel kezelt állati és humán endotél sejtek, endotél eredetű nitrogén-oxidon keresztül vazodilatációhoz, és a TNF- α indukált vaszkuláris inflammáció csökkentéséhez vezetnek (140, 146, 147). Hasonlóképpen Tan és munkatársai leírták, hogy az omentin-1 humán szérum hatására in vitro csökkentette az endotél sejtekben a VEGF, és a CRP által kiváltott migrációt és angiogenezist (148). Valójában az omentin-1 nagymértékben expresszálódik a perivaszkuláris és epikardiális zsírszövetben. Ezáltal az omentin-1 védő szerepet játszhat a koronáriás atheroszklerózisban, az obezitáshoz kapcsolódó kardiovaszkuláris rendellenességekben és magas vérnyomás esetén (149), tekintve az omentin-1 erekre gyakorolt értágító hatását. Az omentin-1 az adiponektin up-reguláción keresztül hat (150), amely viszont a lipid metabolizmust befolyásolja, és ekképp indirekt módon fokozza inzulinérzékenységet.

Vaspin

A viscerális zsírszövet eredetű a serpin proteáz inhibitor, másnéven vaspin, egy olyan inzulin szenzitiáló és anti-atherogén tulajdonságokkal rendelkező adipokin, amelyet először genetikailag obese patkányok viscerális zsírszövetében azonosítottak (151, 152). Később kiderült, hogy a vaspin expresszió nem korlátozódik csupán a zsírszövetre, hanem megtalálható a bőrben, gyomorban, valamint a rágcsálók hipotalamuszában és hasnyálmirigyszigeteiben is (153-155). A vaspin egy anti-inflammatorikus tulajdonságokkal rendelkező adipokin, amely képes javítani az inzulinérzékenységet. Emelkedett szérum vaspin koncentrációt írtak le diabéteszes és policisztás ovárium szindrómás elhízott betegeknél, és korrelációt állapítottak meg a vaspin és a CRP szint között (156). Korábbi vizsgálatok

kimutatták, hogy a vaspin védő szereppel bír az artériákra in vitro, és anti-*inflammatorikus* hatást (157) fejt ki a vaszkuláris simaizom sejtekre. Az endotél sejtekben a vaspin elősegíti a proliferációt, és gátolja azok szabad zsírsavak által okozott apoptózist, valamint védelmet nyújt a cukorbetegséggel összefüggő vaszkuláris sérüléssel szemben. A vaspin növeli a NO szintet (158). A megnövekedett NO termelés fokozza az endotél progenitor sejtek (EPC) migrációját a vaszkuláris endotélium sérüléseinek a helyére, javítva annak regenerálódását, és csökkenti az atheromatózus plakkok kialakulásának kockázatát. A vaspin szint arányos az adipóz szövet mennyiségével, és alacsony az ISZB-vel rendelkező betegeknél. Korábban leírták, hogy az alacsony vaspin szérumban koncentrációk korrelálnak a közelmúltbeli iszkémiás eseményekkel carotis stenosisos betegeknél (159). Továbbá csökkent vaspin szinteket mértek aszimptomatikus ISZB-ben szenvedő betegeknél (160). Zhang és munkatársai szintén leírták, hogy az alacsony vaspin koncentráció összefügg az ISZB és akut koronária betegség gyakoriságával (161). Ismert, hogy a vaspin gátolta az atheroszklerotikus plakk progresszióját apolipoprotein E (ApoE) *-/-* egerekben az endoplazmatikus retikulum stressz indukált makrofág apoptózisának gátlásán keresztül (162).

Obestatin

Az obestatin, egy nemrégiben azonosított anorexigén bél hormon, egy 23 aminosav hosszúságú peptid, mely a preproghrelin prekursor C-terminális részéből származik (163).

Számos ellentmondásos eredményről számoltak be a humán obestatin szerepét tekintve. Az obestatinnak a ghrelinnel ellentétes hatása van a táplálékfelvételt és az energia egyensúlyt tekintve. A gasztrointesztinális traktusban és plazmában az obestatin/ghrelin arányt vizsgáló tanulmányok összefüggést mutatnak néhány betegséggel, mint például az irritábilis bél szindróma (164), obezitás (165) és kettes típusú diabetes mellitus (166). A plazma obestatin koncentrációk negatívan korreláltak a BMI-vel, inzulin rezisztencia indexszel, és a plazma

leptin koncentrációkkal obezitás esetén (167). Az éhgyomri plazma obestatin koncentráció csökkent volt inzulin rezisztencia esetén, és pozitív összefüggést mutatott a teljes test inzulinérzékenységgel nem diabéteszes betegeknél (168). Mindezek alapján az obestatin az adipozitást és inzulin rezisztenciát tükröző táplálkozási marker lehet. Az obestatin emellett, a lipolízis gátlásán keresztül a lipid metabolizmust is szabályozza (169). A szérumban obestatin szintje összefügg a lipidek és a lipid szubfrakciók mennyiségével is elhízott, diabéteszes betegeknél (170).

3. Célkitűzések

Célul tűztük ki a szelektív LDL aferezis kezelés hatásának vizsgálatát súlyos heterozigóta familiáris hiperkoleszterinémiás betegekben:

1. A szérum chemerin szintjére a betegeknél történt első LDL aferezis kezelés előtti és utáni értékek vizsgálatával, az LDL aferezis során használt adszorber oszlop chemerin megkötő kapacitásának meghatározásával, és egy beteg esetén az LDL aferezis kezelés hosszú távú hatásának megfigyelésével.
2. A szérum afamin szintjére a betegeknél történt első LDL aferezis kezelés előtti és utáni értékek vizsgálatával, az értékek egészséges kontroll populációval történő összevetésével, és az LDL aferezis során használt adszorber oszlop afamin megkötő kapacitásának meghatározásával.
3. A szérum α - és γ -tokoferol szintjére a betegeknél történt első LDL aferezis kezelés előtti és utáni értékek vizsgálatával, az értékek egészséges kontroll populációval történő összevetésével.
4. A szérum gélelektroforézissel meghatározott LDL és HDL szubfrakcióira.
5. A szérum további pro- és anti-atherogén hormonszerű peptidjeinek (adiponektin, leptin, vaspin, omentin, RBP4, PEDF, visfatin és obestatin) szintjére a betegeknél történt első LDL aferezis kezelés előtti és utáni értékek vizsgálatával.

4. Betegek és módszerek

4.1 Súlyos heterozigóta familiáris hiperkoleszterinémiás betegek kiválasztása

Vizsgálatainkba a Debreceni Egyetem Belgyógyászati Intézet A épületének Lipid szakrendelésén gondozott súlyos HeFH betegek kerültek bevonásra, akiknél a gyógyszeres lipidcsökkentő kezelés mellett is jelentősen célérték feletti LDL-C szintet észleltünk, ezért a szelektív LDL aferezis kezelés (DALI) elkezdése vált indokolttá. A vizsgálatba bevont betegek egyénekenkénti antropometriai, klinikai és laboratóriumi adatai, lipidcsökkentő kezelése és kardiovaszkuláris társbetegségei láthatóak a 3. táblázatban feltüntetve. A vérvételek mindegyike a betegek első DALI kezelése előtt és után történt, egy esetben végeztünk 12 hónapos követéses vizsgálatot a chemerin szintre gyakorolt tartós hatás vizsgálata céljából.

Az afamin és E vitamin szintek vizsgálatakor egészséges kontroll személyek is bevonásra kerültek a Debreceni Egyetem Belgyógyászati Intézet „A” épületének Ambulanciájáról.

Vizsgálatunkban a beválasztás feltétele 21-70 év közötti életkor volt. A betegek a vizsgálat jellegéről és céljáról szóló részletes felvilágosítást követően beleegyező nyilatkozatot írtak alá. A Debreceni Egyetem Etikai Bizottsága hozzájárult a vizsgálatához. Kizárási kritériumként szerepelt az akut bakteriális vagy vírusfertőzés, az elmúlt három hónapban multivitamin készítmények szedése, az emelkedett májenzimokkal jellemzett, vagy az anamnézisben szereplő krónikus májbetegség és az alkohol- vagy drogfüggőség, az epekövesség, a közelmúltban zajlott miokardiális infarktus, a kezeletlen endokrin betegségek, a terhesség és a szoptatás, a humán immundeficiencia-vírus pozitivitás, a súlyos mentális retardáció (intelligencia-hányados: $IQ < 40$), és kizárásra kerültek az ismert daganatos vagy daganatellenes kemoterápiában részesülő betegek.

3. táblázat. A vizsgálatba bevont betegek antropometriai, klinikai és laboratóriumi adatai, lipidesökkentő kezelése és kardiovaszkuláris társbetegségei

Beteg	P1	P2	P3	P4	P5	P6
Életkor (év)	56	60	64	55	61	59
Nem	ffi	nő	nő	nő	ffi	ffi
Testsúly (kg)	83	66	62	85	70	85
Testmagasság (m)	1,72	1,6	1,65	1,75	1,68	1,82
BMI (kg/m ²)	28,06	25,78	22,77	27,76	24,8	25,8
Dutch score	9	8	8	18	19	11
Koleszterin	9,0	9,3	8,6	9,9	11,6	7,1
LDL-C (mmol/l)	6,2	6,9	6,4	7,5	9,2	5,3
HDL-C (mmol/l)	1,3	2,0	1,1	1,4	1,3	1,3
ApoB (g/l)	1,86	1,89	2,12	2,31	2,82	1,62
ApoA (g/l)	1,68	2,02	1,56	1,47	1,73	1,66
Lp(a) (mg/dl)	223	148	550	816	237	31
Rosuvastatin	40 mg	40 mg	0*	40 mg	40 mg	10 mg**
Ezetimib	10 mg	10 mg	10 mg	10 mg	10 mg	10 mg
ISZB	+	+	+	+	+	+
AMI	+	-	-	-	+	-
CAAD	+	+	+	+	+	+
Stroke	+	+	+	-	-	+
PAD	+	+	-	-	+	-
FH genetika	-	neg	-	LDLR	LDLR	-

BMI: testtömeg index; LDL-C: low-density lipoprotein-koleszterin; HDL-C: high-density lipoprotein-koleszterin; ApoB: apolipoprotein B100; ApoA: apolipoprotein A1, Lp(a): lipoprotein (a); ISZB: iszkémiás szívbetegség; AMI: akut miokardiális infarktusz; CAAD: carotis artéria szűkület; PAD: perifériás artériás betegség; LDLR: LDL receptor

*abszolút statin intolerancia (statin okozta myopathia)

**relatív statin intolerancia (nagyobb dózis mellett ízületi és izomfájdalom)

4.2 Vérvétel és laboratóriumi paraméterek mérése

A vizsgálatba bevont betegektől és a kontrolloktól 12 óras éhezést követően vénás vérvétel történt. A betegektől közvetlenül a DALI kezelés végén is vénás vérmintát vettünk. A szérumból a mintákat 10 perces 3500 g-n történő centrifugálással elválasztottuk 4 °C-on. A mintákból a Debreceni Egyetem Laboratóriumi Medicina Intézetében standard laboratóriumi módszerekkel meghatározták a szénhidrát- és lipidadanyagcsere jellemző paramétereit Cobas c501 típusú analizátorral (Roche Ltd, Mannheim, Németország). A szérumból az összkoleszterin és a triglicerid koncentráció meghatározása enzimátikus, kolorimetriás

módszerrel, a HDL-C és az LDL-C esetében homogén, enzimatiszus módszerrel (Roche HDL-C plus 3rd generation és Roche LDL-C plus 2nd generation) történt. Az apolipoprotein A1 (ApoA1), az apolipoprotein B (ApoB) és a lipoprotein (a) (Lp(a)) értékét immunoturbidimetriás módszerrel mérték (Tina-quant Apolipoprotein A-1 ver.2, Tina-quant Apolipoprotein B ver.2 és Tina-quant Lipoprotein(a) ver.2). A vizsgálatokat a gyártó által megadott útmutató szerint végezték. További laboratóriumi mérésekre a szérumszámítást -70 °C-on helyezték el, és 2 hónapon belül felhasználták.

4.3 LDL-aferezis

A betegek szelektív LDL aferezis kezelése DALI módszerrel történt (Fresenius GmbH, Germany), mely során DALI 750 adszorbens oszlopokat alkalmaztunk. A kezelés során DALI alapozó oldatot (primer solution), antikoaguláns citrát dextróz oldatot (ACD-A), vérelvezető csöveket és 4008 ADS hemadszorpciós monitort (Fresenius HemoCare Adsorber Technology GmbH, St. Wendel, Germany) használtunk.

A kezelést megelőzően az adszorber oszlopokat 3×2000 ml primer oldattal mostuk át 400 ml/perc áramlási sebességgel. Az első 2 liter oldat 20000 IU heparint tartalmazott. Feltöltés közben az adszorbenseket citráttal telítettük. A beteg ACD-A infúziót kapott a kezelés közben. Az ACD-A oldatot a kezelés indításakor 1:20 arányban adagoltuk, melyet 1500 ml kezelt vérmennyiség után 1:40 arányra csökkentettünk.

Az egyik könyökhajlat vénája szolgáltatta a vérnyerési, a másik a vér visszaadási lehetőséget. A kezelése során folyamatos vérnyomás-megfigyelés zajlott. Az összes kezelés előtt és után vénás vérvétel történt.

4.4 Szérum chemerin szint meghatározása

A szérum chemerin szint meghatározás kereskedelmi forgalomban kapható enzimhez kapcsolt immunszorbens vizsgálati (ELISA) kittel (Human Chemerin Quantikine ELISA, katalógusszám: DCHM00, R&D Systems, MN, USA) történt a gyártó használati útmutatásának megfelelően. Az intra- és interassay variációs koefficiensek <10%, illetve <12% voltak.

4.5 Fehérje frakció LDL-aferezist követő elúciója DALI 750 adszorbens oszlopról, és chemerin szint meghatározás az eluátumból

Az aferezis kezelést követően a chemerin elúcióját az aferezis oszlopról Dihazi és munkatársai által leírt módszer alapján végeztük (173). A DALI750 adszorbens oszlopokat foszfát-pufferes sóoldattal (pH 7,4) mostuk át. A fehérje elúciót három lépésben végeztük el, egymás után három különböző pH-értékű 250 ml acetát pufferrel a következő sorrendben: pH 5,0; pH 4,0; pH 3,0. Ezt követően határoztuk meg a különböző pH-értékű pufferekkel kapott eluátumok chemerin koncentrációját, kereskedelmi forgalomban kapható ELISA kittel (Human Chemerin DuoSet ELISA, katalógusszám: DY2324, R&D Systems, MN, USA) a gyártó használati útmutatásának megfelelően.

4.6 Szérum afamin szint meghatározása

A szérum afamin szint meghatározás kereskedelmi forgalomban kapható ELISA kittel (Afamin Human ELISA, katalógusszám: RD194428100R, BioVendor, NC, USA) történt a gyártó használati útmutatásának megfelelően. Az intra- és interassay variációs koefficiensek <3,61%, illetve <3,4% voltak.

4.7 Plazma α - és γ -tokoferol szint meghatározása

Az α - és γ -tokoferol mennyiségi meghatározása plazma mintából Zerbinati és munkatársai által leírt módszer alapján történt (171), gázkromatográfiás-tömegspektrometriás (GC-MS) módszerrel, a mérés optimalizálásához szükséges módosításokkal.

A standard görbe elkészítéséhez a belső standard módszert alkalmaztunk. Az α - és γ -tokoferol metanolos törzsoldataiból (α -tokoferol, 1,0 mg/ml metanolban, certified reference material, γ -tokoferol 1,0 mg/ml metanolban, certified reference material, Sigma-Aldrich St. Louis, MO USA) metanollal (Sigma-Aldrich St. Louis, MO USA) hígítási sort készítettünk. A kalibrációs pontok a következők lettek: α -tokoferol: 3,13; 6,25; 12,5 és 25 $\mu\text{g/ml}$, γ -tokoferol: 0,063; 0,125; 0,25 és 0,5 $\mu\text{g/ml}$. A standard oldatokhoz belső standardként állandó mennyiségben (4 μg) adtunk 2,2,5,7,8-Pentamethyl-6-chromanolt (Sigma-Aldrich St. Louis, MO USA) metanolban oldva. A metanolt nitrogén áram alatt elpárologtattuk, majd 130 μl Sylon™ HTP (HMDS+TMCS+Pyridine, 3:1:9, Sigma-Aldrich St. Louis, MO, USA) szililező oldat hozzáadása után 30 percig 60 °C-on derivatizáltuk. Ezután a szililezőszert ismét nitrogén áram alatt elpárologtattuk a standardokról, melyeket ezután 50 μl n-hexánban (Merck, Darmstadt, Germany) oldottunk fel.

A plazmaminták előkészítéséhez 5 μl plazmához 100 μl 2,2,5,7,8-Pentamethyl- 6-chromanolt (4 $\mu\text{g/ml}$ metanolban oldva) belső standardot, 100 μl metanolt és 95 μl fiziológiás sóoldatot adtunk. Ezt követően az extrakcióhoz 1 ml n-hexánt adtunk a mintákhoz, amelyeket ezt követően alaposan vortexeltük, majd centrifugáltuk. A felülúszót ezután 1,5 ml-es mintatartó üvegekbe pipettáztuk át, majd a szerves oldószert nitrogén áram alatt elpárologtattuk. Végül a mintákat a standardoknál leírt módon derivatizáltuk, és a mintaelőkészítés végén 50 μl n-hexánban oldottuk fel.

A GC-MS mérések Finnigan Trace GC Ultra gázkromatográfval, illetve az ahhoz kapcsolt Polaris Q tömegspektrométerrel történtek (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA USA). A

mintákat manuálisan injektáltuk egy Agilent J&W oszlopra (DB-5MS UI; 60 m x 0,25 m x 0,25 μ m), vivőgázként héliumot használva (áramlási sebesség: 1 ml/perc, állandó áramlási mód). Az injektálási térfogat 2 μ l volt. Az injektálás splitless módban történt, az injektor hőmérséklete a mérés során végig 260 °C volt. A kolonna kezdeti hőmérséklete 150 °C volt 2 percig, majd 25 °C/perc felfűtési sebességgel 300 °C-ra emelkedett, melyet további 15 percig tartott. A teljes elemzési idő 23 perc volt. A tömegspektrométer szelektív ionkövetés (selective ion monitoring, SIM) módban működött. A választott ionok a következők voltak: α -tokoferol-TMS: 237.3 m/z, γ -tokoferol-TMS: 488.4 m/z, 2,2,5,7,8-Pentamethyl-6-chromanol-TMS: 292.3 m/z.

4.8 LDL- és HDL-koleszterin szubfrakciók vizsgálata

A különböző lipoprotein szubfrakciók elkülönítésére Lipoprint rendszert (Quantimetrix Corp., Redondo Beach, CA) használunk, amely egy csöves, nem-grádiens gélelektroforézis rendszer. A Lipoprint használatával, a lipoproteinek mérete alapján 7 különböző LDL szubfrakció és 10 különböző HDL szubfrakció elválasztására van lehetőség. Az így elválasztott 7 LDL szubfrakció a nagy, kevésbé denz LDL-1 és LDL-2 valamint a kis denz LDL-3,-4,-5,-6 és -7 (172). A HDL szubfrakciós teszt esetén a nagy HDL szubfrakcióhoz tartozó HDL-1,-2,-3, a közepes szubfrakcióhoz tartozó HDL-4,-5,-6,-7 valamint a kis HDL szubfrakcióhoz tartozó HDL-8,-9,-10 különíthetők el.

A Lipoprint alkalmazása során akrilamidot tartalmazó üvegcsövek felső részére 25 μ l szérumból mintát vittünk fel. A mintákban lévő különböző lipoproteineket 200 μ l szudán fekete festéket tartalmazó folyékony gél használatával tettük láthatóvá. 30 perces fotopolimerizálást követően a csövek elektroforézis kádba kerültek, amelynek alsó és felső részét Tris és bórsavat tartalmazó puffer oldattal töltöttük fel, ezután a minták 3 mA/cső áramerősség és 500 V feszültség mellett az LDL szubfrakciós teszt esetében 60 percig, míg a HDL szubfrakciós

teszt esetében 50 percig elektroforetizálódtak. Végül 30 perccel az elektroforézis után a lipoprotein szubfrakciókat tartalmazó csövek digitalizálását és a Lipoware szoftver (Quantimetrix Corp.) segítségével történő kiértékelését elvégeztük. Az átlagos LDL méretet (nm) a denzitogram alapján szintén a Lipoware szoftver számítja ki.

4.9 Adiponektin, leptin, vaspin, omentin-1, RBP4, PEDF, visfatin és obestatin és oxLDL szérumszintjének meghatározása.

A szérumszintjének adiponektin, leptin, vaspin, omentin-1, RBP4, PEDF, visfatin és oxLDL szintjét kereskedelmi forgalomban kapható szendvics ELISA kiték segítségével végeztük, az alkalmazási előíratban foglaltak szerint (adiponektin, vaspin, omentin-1, PEDF, visfatin: Biovendor GmbH, Németország; RBP4, leptin: R&D Systems, MN, USA; oxLDL: Mercodia AB, Svédország). Az intra- és interassay variációs koefficiensek a következők szerint változtak: az adiponektin esetében 3,3-4,4% illetve 5,8-6,2%, a leptin esetében 3,0-3,3%, illetve 3,5-5,4%, vaspin esetében 6,5-8,7%, illetve 5,8-9,5%, omentin-1 esetében 3,2-4,1%, illetve 4,4-4,8%, RBP4 esetében 5,7-8,1%, illetve 5,8-8,6%, PEDF esetében 2,92-4,05%, visfatin esetében 2,31-9,11%, illetve 4,66-7,24%, az oxLDL esetében 5,5-7,3%, illetve 4-6,2% voltak. A szérumszintet enzim immunvizsgálat (EIA) módszerrel határoztuk meg (Yanaihara Institute Inc., Shizuoka, Japán).

4.10 Statisztikai elemzés

A vizsgálat statisztikai értékelését a STATISTICA version 8.0 szoftver segítségével végeztük (Statsoft Inc. Tulsa, OK, USA). Először normalitás próbát alkalmaztunk a Kolmogorov-Smirnov teszt segítségével. Normál eloszlás esetén az adatokat átlag±szórás (SD) formájában ábráztuk, nem-normál eloszlású paraméterek esetén az adatokat medián, ill. alsó és felső

kvartilis értékek formájában fejeztük ki. A betegek kezelés előtti és utáni eredményeit párosított t-próbával vizsgáltuk. A betegek kezelés előtti adatainak összehasonlítása a kontroll csoport értékeivel nem párosított t-teszt használatával történt. A szignifikancia határa ebben az esetben is $p < 0,05$ volt. Friedman-féle ANOVA és Kendall-féle rang-korrelációs összehasonlító tesztet alkalmaztunk a különböző pH-értékű pufferekkel eluált chemerin koncentrációk összehasonlítására.

5. Eredmények

5.1 Szelektív LDL aferezis kezelés hatása szérum chemerin szintekre

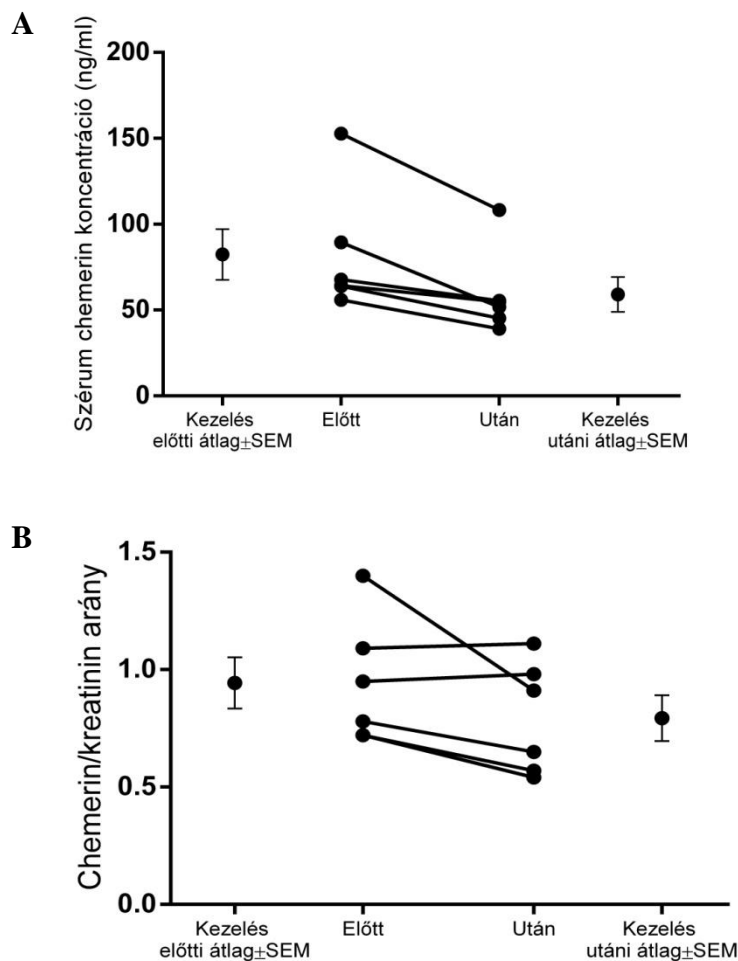
A vizsgálatban résztvevők antropometriai és laboratóriumi paraméterei a 4. táblázatban összefoglalva láthatóak.

4. táblázat: A HeFH betegek antropometriai adatai és lipid paraméterei életük első LDL aferezis kezelése előtt és után

	Kezelés előtt	Kezelés után	Változás (%)
Kor (év)	60,57±4,79		
Nem (nő/férfi)	3/3		
Testtömeg index (kg/m²)	26,19±2,14		
Derék körfogat (cm)	101±8,19		
Összkoleszterin (mmol/l)	9,25±1,49	4,41±0,99***	-52,58
LDL-C (mmol/l)	6,92±1,34	2,69±0,97***	-61,84
HDL-C (mmol/l)	1,40±0,31	1,24±0,16*	-10,46
ApoB (g/l)	2,10±0,42	0,82±0,28***	-61,49
ApoA (g/l)	1,69±0,19	1,44±0,10**	-14,09
Kreatinin (μmol/l)	94,33±58,18	82,33±52,95**	-13,52
Szérum chemerin (ng/ml)	82,34±36,30	59,09±24,89**	-27,26
Nagy LDL szubfrakció (%)	27,36±6,64	23,72±4,62	-12,2
Kis-denz LDL szubfrakció (%)	4,86±4,27	1,14±1,57**	-83,81
Átlagos LDL méret (nm)	26,64±0,568	26,98±0,402*	0,129
Nagy HDL szubfrakció (%)	21,08±4,79	24,36±4,25	16,7
Közepes HDL szubfrakció (%)	45,16±5,25	50,02±3,47	11,45
Kis HDL szubfrakció (%)	33,76±8,66	25,62±5,75**	-23,44

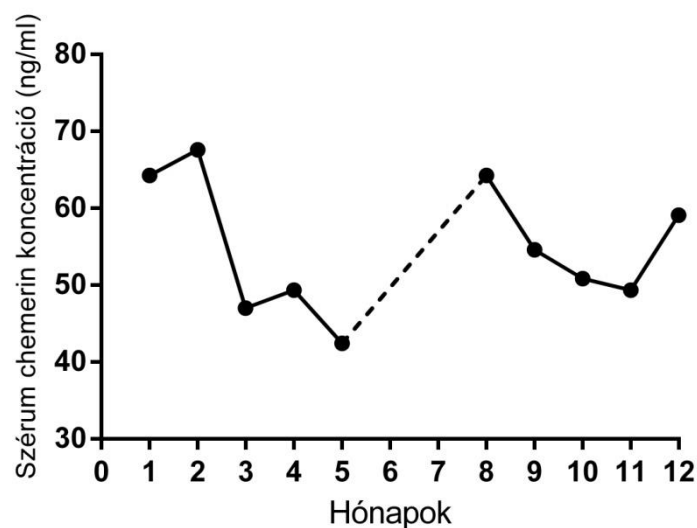
Az adatok átlag±szórás (SD) formában vannak feltüntetve. *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001
 LDL-C: alacsony sűrűségű lipoprotein koleszterin, HDL-C: nagy sűrűségű lipoprotein koleszterin, ApoB: apolipoprotein B, ApoA: apolipoprotein A, LDL: alacsony sűrűségű lipoprotein, HDL: nagy sűrűségű lipoprotein

A szérumban chemerin szintek az összes betegben szignifikánsan csökkentek első aferezis kezelést követően, átlagosan 27,26%-kal (átlagosan 82,34 ng/ml-ről 59,09 ng/ml-re). Hogy a kezelés során történő hígítás hatását kizárjuk, a szérumban chemerin/kreatinin arányt is kiszámoltuk, amely 16,65%-os szignifikáns csökkenést mutatott az első kezelése után. Az egyénekenkénti szérumban chemerin szint csökkenések és chemerin/kreatinin arányok az 3-as ábrán láthatóak.



3. ábra: A) A hat HeFH beteg szérumban chemerin szintjei (ng/ml); **B)** A hat HeFH beteg szérumban chemerin/kreatinin aránya (%) közvetlenül az első szelektív LDL aferezis kezelésük előtt és után DALI 750 oszlop alkalmazásával. Rövidítés: SEM, standard error of the mean-átlag szórása

Az LDL aferezis szérumban kemerin szintekre kifejtett hosszú távú hatásának vizsgálatához 10 kezelésen keresztül vizsgáltuk az egyik beteg kezelés előtti szérumban kemerin szintjeit. Azt találtuk, hogy a kemerin szint csökkenő tendenciát mutat a 12 hónapos követés során. A beteg az ötödik kezelés után a kezeléseket 3 hónapos felfüggesztését kérte (családi okok miatt). Ez idő alatt a keringésben lévő kemerin szint jelentősen növekedett, elérve az első kezelés előtti kiindulási szintjét. Majd az LDL aferezis kezelés folytatásával a szérumban kemerin koncentrációk elkezdtek csökkenni, jelezve a folytonos kezeléseket fontosságát a szérumban kemerin szint állandó csökkenésének megtartásához (4. ábra).



4. ábra: Az egyik HeFH beteg (Beteg 2) havonkénti LDL aferezis kezelés előtt mért szérumban kemerin szint változásai 12 hónapon keresztül. A kezelést 3 hónapon át szünetelt (---).

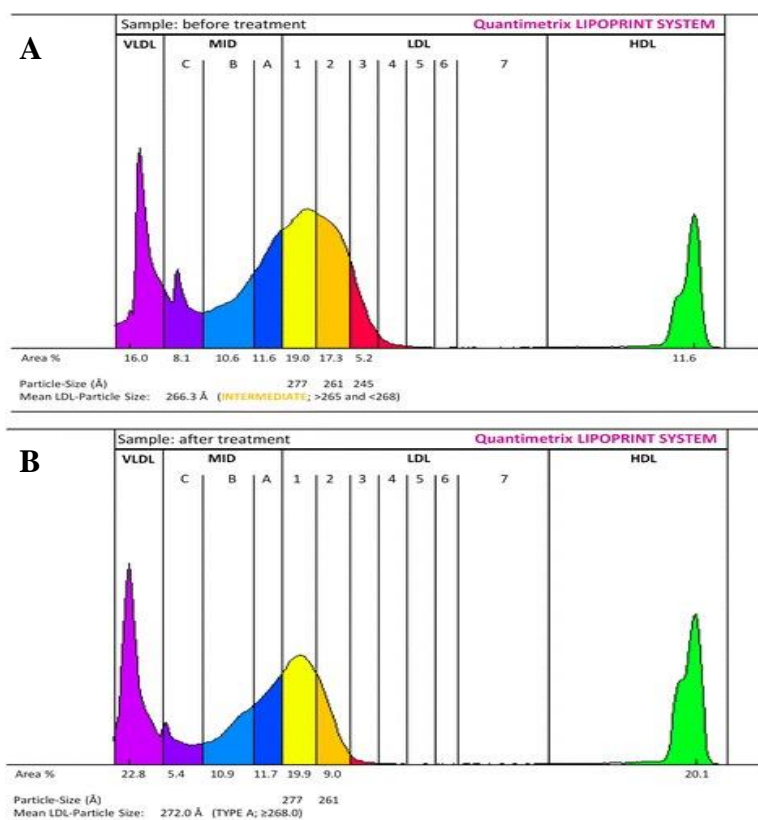
Ahhoz, hogy bebizonyítsuk, hogy a kemerin fizikailag kötődik az adszorber oszlophoz, a kezelést követően fehérje frakciókat eluáltunk az aferezis oszlopról három különböző pH-értékű acetát puffer oldattal. A három különböző pH-értékű eluátumból mért kemerin koncentrációk a 5. táblázatban láthatók.

5. táblázat: Az LDL aferezis oszlopról eluált oldat chemerin szintjei (ng/mL)

	Beteg 1	Beteg 2	Beteg 3	Beteg 4	Beteg 5	Beteg 6	Medián (alsó-felső kvartilis)
pH 3,0	148,89	79,73	71,69	134,69	37,82	24,77	75,7 (37,8–134,7)
pH 4,0	383,28	187,44	169,43	112,59	122,23	124,62	147,0 (122,2–187,4)
pH 5,0	649,73	272,62	273,76	176,37	188,79	278,31	273,2 (188,8–278,3)

Az eluátumok mindegyikében sikerült chemerint kimutatni. Szignifikánsan több fehérje eluálódott a magasabb pH-értékű puffer oldatokkal ($p < 0,01$) (5. táblázat).

Egyes kiválasztott betegek esetén Lipoprint módszert alkalmazva LDL és HDL szubfrakciós vizsgálatokat végeztünk az LDL aferezis kezelése előtt és után. A kezelés után mind az LDL, mind a HDL esetében kedvező mennyiségi és minőségi változásokat figyelhettünk meg (4. táblázat). Ezek közül a változások közül a legjelentősebb az, hogy az LDL aferezis jelentősen csökkentette a kis denz LDL szubfrakciókat (4. táblázat, 5. ábra).



5. ábra: A HeFH betegek reprezentatív lipoprotein szubfrakciós mintázata LDL aferezis kezelés előtt (A) és után (B). A kis-denz LDL szubfrakciók pirossal vannak jelölve.

5.2 Szelektív LDL aferezis hatása szérumban afamin és plazma E-vitamin szintekre

A vizsgálatban résztvevő betegek és egészséges kontrollok antropometriai és laboratóriumi adatai összefoglalva az 6. táblázatban láthatóak.

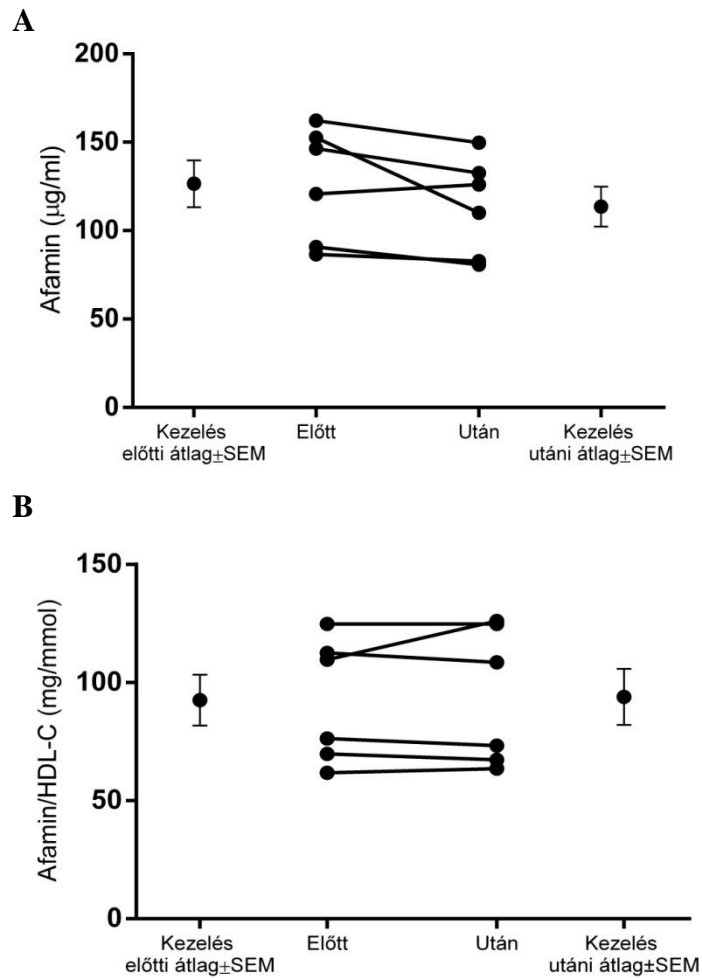
6. táblázat: A HeFH betegek és kontrollok antropometriai adatai és laboratóriumi paraméterei az LDL aferezis kezelés előtt és után.

	Betegek		Változás (%)	Kontrollok
	Kezelés előtt	Kezelés után		
Kor (év)	59,17±3,31			56,43±3,64
Nem (nő/férfi)	3/3			4/3
Testtömeg index (kg/m²)	25,83±2,14			27,13±3,13
Összkoleszterin (mmol/l)	9,25±1,49	4,41±0,99***	-52,6	5,02±1,01†††
LDL-C (mmol/l)	6,92±1,34	2,69±0,97***	-61,8	2,96±0,67††
HDL-C (mmol/l)	1,40±0,31	1,24±0,16*	-10,5	1,68±0,37†
ApoB (g/l)	2,10±0,42	0,82±0,28***	-61,5	0,95±0,25††
ApoA1 (g/l)	1,69±0,19	1,44±0,10**	-14,1	1,86±0,28†
Kreatinin (µmol/l)	70,8±8,8	61±9,5**	-13,8	73,8±13,4
Szérumban afamin (ng/ml)	126,5±32,4	113,6±27,8**	-9,4	90,2±21,5††
Afamin/HDL-C (mg/mmol)	92,51±26,3	93,94±29,1	1,1	54,62±12,2†
Afamin/ApoA1(mg/g)	74,63±15,7	78,84±19	5,4	48,93±9,21††
α-tokoferol (µg/ml)	16,99±5,07	10,8±2*	-34,1	9,26±0,8††
γ-tokoferol (µg/ml)	0,35±0,09	0,22±0,04**	-32,9	0,17±0,05†††
α-tokoferol/összkoleszterin (mg/mmol)	1,86±0,6	2,52±0,6*	41,4	1,8±0,3
γ-tokoferol/összkoleszterin (mg/mmol)	0,04±0,01	0,05±0,02*	40,3	0,03±0,01
oxidált LDL (U/l)	76±8,9	33,1±12,9**	-57,4	47,9±13,6††

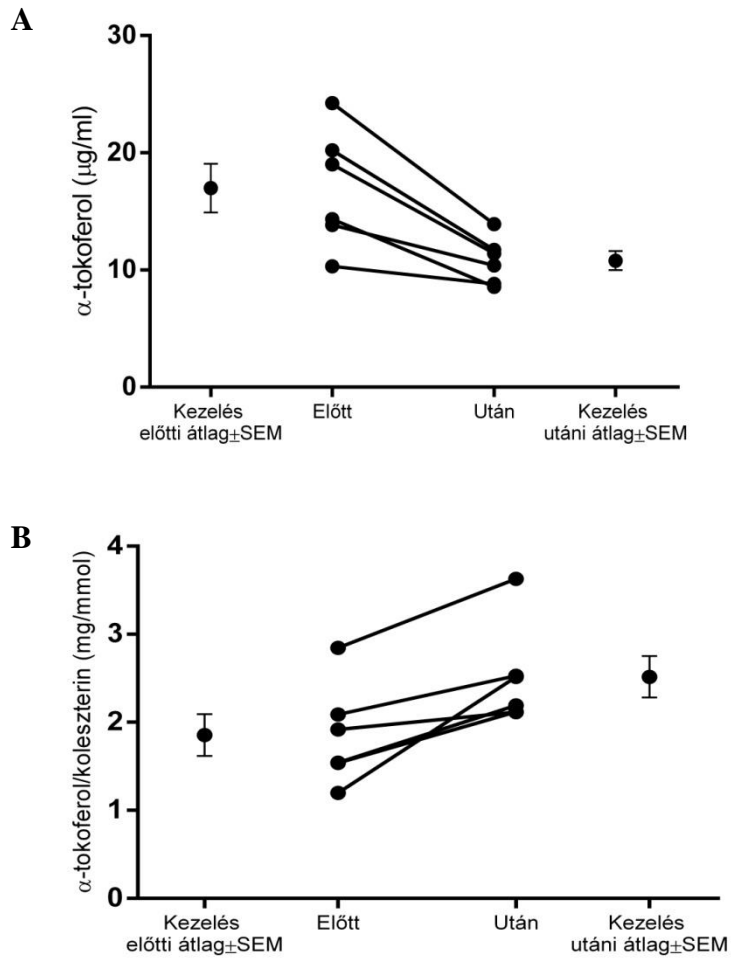
Az adatok átlag±szórás (SD) formában vannak feltüntetve.

Kezelés előtti értékek összevetve a kezelés utáni értékekkel: *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001
Kezelés előtti értékek összevetve a kontroll csoport értékeivel: †p<0,05; ††p<0,01; †††p<0,001
LDL-C: kis sűrűségű lipoprotein koleszterin HDL-C: nagy sűrűségű lipoprotein koleszterin,
ApoB: apolipoprotein B, ApoA1: apolipoprotein A1, LDL: kis sűrűségű lipoprotein

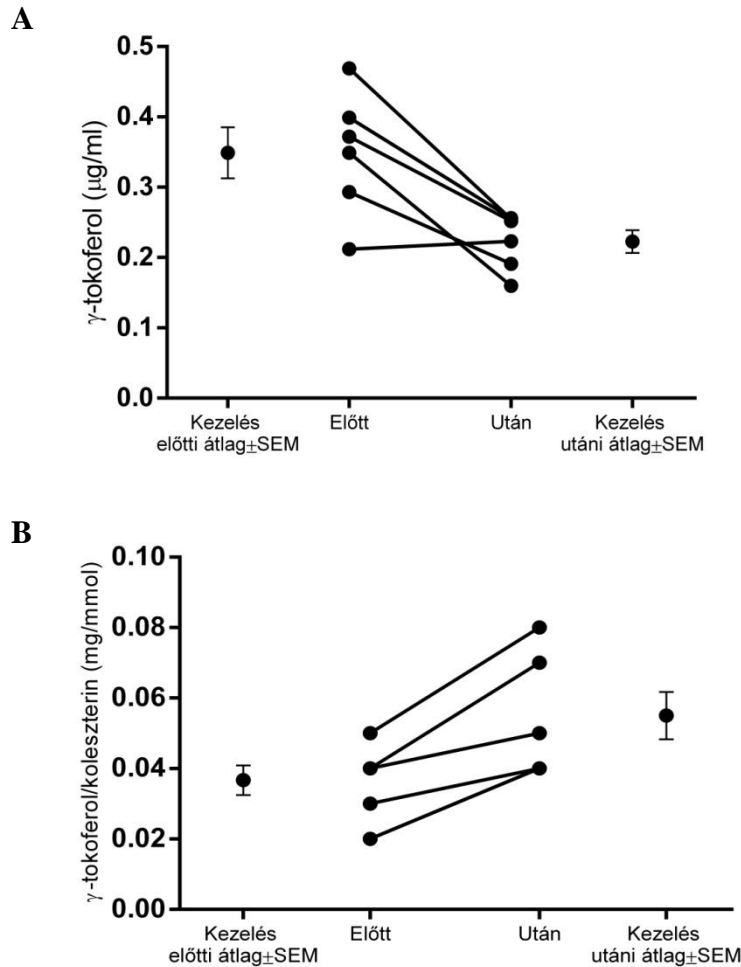
Az első kezelés mindössze átlagosan 9,4%-al csökkentette a szérum afamin koncentrációkat (6. táblázat). Ezzel párhuzamosan a HDL és ApoA1 szintek 10,5 és 14,1%-kal csökkentek. Következésképpen az afamin/HDL és afamin/ApoA1 arányok nem változtak szignifikánsan (6. táblázat, 6. ábra). A kiindulási afamin szint szignifikánsan magasabb volt a HeFH-s betegekben a kontrollokhöz képest. Azt találtuk, hogy az α - és γ -tokoferol szintek jelentősen csökkentek (34,1 és 32,9%-kal) a betegekben az LDL aferezis kezelés hatására (7-8. ábra), míg az α -tokoferol/összkoleszterin és γ -tokoferol/összkoleszterin arány szignifikánsan emelkedett (41,4 és 40,3%-kal) (6. táblázat, 7-8. ábra). A kiindulási α - és γ -tokoferol szintek szignifikánsan magasabbak voltak a betegekben az egészséges kontrollokhöz viszonyítva. Ezzel ellentétben az α -tokoferol/összkoleszterin és γ -tokoferol/összkoleszterin arányok a kezelés előtt a kontrollokhöz hasonlóak voltak a betegeknél.



6. ábra: A) A hat HeFH beteg szérum afamin szintjei ($\mu\text{g/ml}$); **B)** A hat HeFH beteg szérum afamin/HDL arányainak változásai közvetlenül az első, DALI 750 oszlop alkalmazásával történő szelektív LDL aferezis kezelésük előtt és után. Rövidítés: SEM, standard error of the mean (átlag szórása).



7. ábra: **A)** A hat HeFH beteg szérum α -tokoferolszintjei ($\mu\text{g/ml}$) és; **B)** A hat HeFH beteg szérum α -tokoferol/összkoleszterin arányainak változásai közvetlenül az első, DALI 750 oszlop alkalmazásával történő szelektív LDL aferezis kezelésük előtt és után. Rövidítés: SEM, standard error of the mean (átlag szórása).



8. ábra: A) A hat HeFH beteg szérumban γ -tokoferol szintjei ($\mu\text{g/ml}$) és; **B)** A hat HeFH beteg szérumban γ -tokoferol/koleszterin arányainak változásai közvetlenül az első, DALI 750 oszlop alkalmazásával történő szelektív LDL aferezis kezelésük előtt és után. Rövidítés: SEM, standard error of the mean (átlag szórása).

A kiindulási oxidált LDL szint szignifikánsan magasabb volt a betegekben a kontrollokhoz képest (6. táblázat). Továbbá a kezelés során az oxidált LDL szint szignifikánsan csökkent (-57,4%) a betegeknél. A kis HDL részecskék aránya szignifikánsan csökkent, míg a nagy HDL részecskék aránya némileg nőtt, ezzel az aferezis kezelést követően egy eltolódást eredményezve a nagyobb méretű HDL szubfrakciók irányába. A kiindulási kis HDL részecske arány szignifikánsan magasabb, míg a kiindulási nagy HDL részecske arány

szignifikánsan alacsonyabb volt az HeFH betegekben az egészséges kontrollokhoz képest (7. táblázat).

7. táblázat: A HeFH betegek HDL szubfrakcióinak eloszlása az LDL aferezis kezelés előtt és után, ill. összehasonlítása egészséges kontroll személyekkel.

	Betegek			Kontrollok
	Kezelés előtt	Kezelés után	Változás (%)	
Nagy HDL (%)	21,08±4,79	24,36±4,25	16,7	30,07±5,25 [†]
Közepes HDL (%)	45,16±5,25	50,02±3,47	11,45	48,47±3,19
Kis HDL (%)	33,76±8,66	25,62±5,75*	-23,44	21,46±6,28 [†]

HDL: nagy sűrűségű lipoprotein

Kezelés előtti értékek összevetve a kezelés utáni értékekkel: *p<0,05

Kezelés előtti értékek összevetve a kontroll csoport értékeivel: [†]p<0,05

5.3 A szelektív LDL aferezis hatása további pro- és anti-atherogén

hormoszerű peptidek szintjére

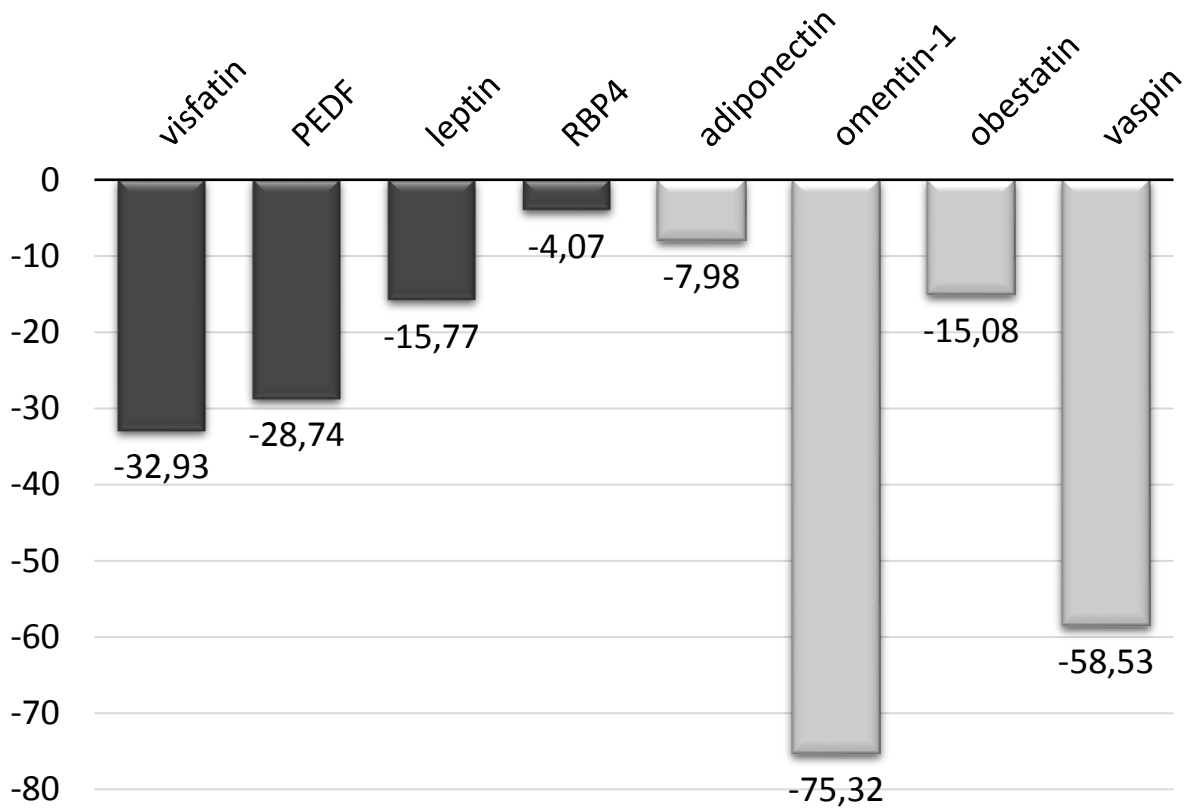
A szelektív LDL aferezis hatása a vizsgált pro- és anti-atherogén hormonszerű peptidek szintjére változó mértékű, de számos peptid, például az omentin-1 (-75,32%) és a vaspin (-58,53%) esetén igen kifejezett (8. táblázat, 9. ábra). Minden vizsgált peptid szintje csökkenést mutat, de a jelentős mértékű szórás miatt csak a visfatin, PEDF, omentin-1 és vaspin esetén bizonyult szignifikáns mértékűnek.

8. táblázat: A HeFH betegek pro- és anti-atherogén hormonszerű peptidszintjének változása az LDL aferezis kezelés előtt és után. Az értékek átlag±szórás formájában vannak feltüntetve.

	Kezelés előtt	Kezelés után	Változás (%)
Kor (év)	60,57±4,79		-
Nem (nő/férfi)	3/3		-
Testtömeg index (kg/m²)	26,19±2,14		-
Derék körfogat (cm)	101±8,19		-
Pro-atherogén hormonszerű peptidek			
leptin (ng/ml)	13,05±6,64	10,67±5,04	-15,77
visfatin (ng/ml)	6,78±3,54	5,01±4,23	-32,93*
PEDF (µg/ml)	24,78±5,69	16,68±3,73	-28,74*
RBP4 (µg/ml)	36,05±10,67	34,58±9,14	-4,07
Anti-atherogén hormonszerű peptidek			
adiponektin (µg/ml)	7,06±0,57	6,55±1,16	-7,98
omentin-1 (ng/ml)	367,4±54,61	88±16,43	-75,32*
vaspin (ng/ml)	0,25±0,13	0,14±0,02	-58,53*
obestatin (ng/ml)	2,8±0,31	2,36±0,27	-15,08

Kezelés előtti értékek összevetve a kezelés utáni értékekkel: *p<0,05

PEDF: pigment epithelium derived factor, RBP4: retinol binding protein 4



9. ábra: A HeFH betegek pro- (■) és anti-atherogén (□) hormonszerű peptid szintjeinek változásai (%) közvetlenül az első, DALI 750 oszlopok alkalmazásával történő szelektív LDL aferezis hatására. PEDF: pigment-epitélium eredetű faktor, RBP4: retinol kötő protein 4

6. Az új eredmények összefoglalása

1. A szelektív LDL aferezis kezelés súlyos heterozigóta familiáris hiperkoleszterinémias betegekben szignifikánsan csökkenti a szérumban a chemerin szintjét az első kezelés során. A csökkenésért a chemerin kikötődése az LDL aferezis során használt adszorber oszlophoz a felelős. Egy beteg esetét vizsgálva az LDL aferezis kezelés hosszútávon is hatékonyan csökkenti a chemerin szérumban szintjét.
2. A szérumban a afamin szintje mérsékelten csökken az első szelektív LDL aferezis kezelés hatására. A betegek kiindulási afamin szintje szignifikánsan magasabb a kontrollokhöz képest. Az LDL aferezis során használt adszorber oszlop kimutatható mennyiségben nem képes megkötni az afamint.
3. A szérumban α - és γ -tokoferol szintje jelentősen csökken az első LDL aferezis kezelés során, ezzel szemben az α - tokoferol/összkoleszterin és a γ -tokoferol/összkoleszterin arány szignifikánsan emelkedik a kezelés hatására. A kiindulási α - és γ -tokoferol szintek szignifikánsan magasabbak a betegekben, ugyanakkor az α - tokoferol/összkoleszterin és a γ -tokoferol/összkoleszterin arány hasonló a betegekben és kontrollokban a kezelés előtt.
4. Az LDL aferezis kezelés jelentősen csökkenti a kisebb és sűrűbb LDL szubfrakciók szintjét Lipoprint módszerrel vizsgálva. A kisebb HDL partikulumok aránya szignifikánsan csökken, míg a nagy HDL partikulumoké kissé nő, így a HDL szubfrakciók aránya a nagyobb részecskék irányába tolódik el.
5. Az egyéb vizsgált hormonhatású peptidek (adiponektin, leptin, vaspin, omentin, RBP4, PEDF, visfatin és obestatin) szérumban szintje is csökken a kezelés hatására, de a változás csak a visfatin, PEDF, omentin-1 és vaspin szintek esetén szignifikáns mértékű.

7. Megbeszélés

Az előzetes adatokkal megegyezően a szelektív LDL aferezis kezelés jelentősen csökkentette az LDL-C és Lp(a) szinteket FH betegekben. Ismert, hogy az LDL aferezis egyéb, az érlelmeszesedés ellen védő pleiotróp hatásokkal is rendelkezik azáltal, hogy csökkenti számos proinflammatorikus peptid plazma koncentrációját, beleértve citokineket, kemokineket, adhéziós faktorokat és a C-reaktív proteint is (161). Habár ezeknek a folyamatoknak a mechanizmusa még nem ismert, felmerül a felülethez történő direkt kötődés, gén transzkripción és transzláción keresztül történő indirekt változások szerepe is. Dihazi és munkatársai LDL aferezis előtti és utáni szérumbeltek mintákat hasonlított össze proteomikai vizsgálattal. Több, mint 70 funkcionális peptid szignifikáns csökkenését írták le, beleértve olyan fehérjéket, amelyek a véralvadási rendszer részei, valamint olyanokat, melyek adhéziós, reológiai és gyulladáshoz szereppel bírnak (172). Arra a következtetésre jutottak, hogy kezelés közben erős kölcsönhatás van az oszlop és egyes szérumbeltek között, míg mások különféle molekulák módosult génexpresszióját írták le az aferezis kezelést követően (173-175).

A chemerin egy, a fehér zsírszövet által termelt proinflammatorikus, ezáltal pro-atherogénnek tartott szérumbeltek fehérje (64). Legjobb tudomásunk szerint az LDL aferezis hatását szérumbeltek chemerin szintekre korábban nem vizsgálták. Vizsgálatunk során azt találtuk, hogy a szérumbeltek chemerin szint a szelektív LDL aferezis után jelentősen csökkent az FH-s betegekben. Szintén bemutattuk - habár csak egy beteg esetén -, hogy a folyamatos kezelés szükséges ahhoz, hogy a szérumbeltek chemerin szint tartósan alacsonyabb maradjon. Az LDL-C szint csökkentésén túl a keringésben lévő chemerin koncentráció csökkentése az LDL aferezis kezelés további hasznos hatása lehet a chemerin feltételezett proinflammatorikus és pro-atherogén tulajdonságai miatt. Mivel jelenleg az LDL aferezis a súlyos hiperlipidémiáknak nem széles körben alkalmazott kezelése, vizsgálatainkat limitált betegszámon végeztük. Természetesen

indokolt a jövőben nagyobb betegpopulációkon további vizsgálatok elvégzése, hogy alátámasszuk az LDL aferezis a chemerin szintre kifejtett rövid- és hosszú távú hatásait.

LDL aferezis kezelés után szignifikáns mennyiségű chemerint tudunk eluálni az aferezis oszlopról. Mindez alátámasztja azt a feltételezést, hogy a chemerin fizikailag kötődhet az aferezis oszlophoz, habár a kötődés pontos mechanizmusa nem ismert. Az irodalomban ugyan nincs információ a chemerin töltéséről, de feltételezhetjük, hogy hasonlóan az ApoB100 tartalmú, pozitívan töltött lipoprotein részecskékhez, a chemerin is direkt módon kötődhet az oszlophoz. Másfelől az is lehetséges, hogy a chemerin a pozitív töltéssel rendelkező lipoprotein részecskékhez kapcsolódik, és ezáltal indirekt módon kötődik az adszorber oszlophoz. A kötődés pontos mechanizmusának feltárására további vizsgálatok szükségesek.

Korábbi tanulmányok kimutatták, hogy az LDL aferezis kezelés a kicsi, denz, különösen pro-atherogén LDL szubfrakció lecsökkenésével jár, és a szubfrakciós mintázatot egy sokkal kevésbé atherogén irányba változtatja meg (176, 177). Vizsgálatunkban azt találtuk, hogy az LDL szubfrakciók mind mennyiségben, mind arányaiban kedvezően változtak az aferezis kezelést követően, elérve a kicsi, denz, erősen atherogén LDL szubfrakciók erőteljes csökkenését. A kis, denz LDL szubfrakciók fokozottan érzékenyek az oxidatív módosításokra, ezért kulcsfontosságúak az atheroszklerózis folyamatának elindításában és progressziójában. Így ezeknek a szubfrakcióknak a csökkentése a magas kockázatú betegcsoportokban kiemelt fontosságú lehet. A fenti eredmények alapján az aferezis kezelés lipid szubfrakciókra kifejtett hatása hozzájárulhat a chemerin szint jótékony csökkenéséhez.

Az oxidatív folyamatok kiemelt szerepet játszanak az érlelmeszesedés kialakulásában, ugyanis az LDL oxidatív módosulása révén jelentős szerepük van az érfali habos sejtek, majd a plakk kialakulásában (178). Továbbá a HDL részecskék oxidatív módosulása csökkenti a HDL érlelmeszesedéssel szembeni védő hatását (179). Ezért az antioxidáns hatásúnak tartott vitaminok, például az E-vitamin szerepét évtizedek óta intenzíven tanulmányozzák (180). Az

E-vitaminként ismert tokoferolok a lipoproteinek egyik legfontosabb antioxidánsának számítanak.

Az afamin egyike az E-vitamin szállításban szerepet játszó szérumban lévő fehérjéknek, így szintje lényeges lehet az E-vitamin szérumszintjének fenntartásában. Emellett az afamin részt vesz a sejtek apoptózisának és oxidatív folyamatainak szabályozásában (181). Szérumban szintje markere pl. a 2-es típusú diabetesnek (182) és a terhesség alatt észlelt metabolikus változásoknak (183). Emellett az afaminhoz kötődnek egyes ún. Wnt fehérjék, melyek fontos szerepet játszanak az őssejt regeneráció, a csontképződés, immunszabályozás és a daganatképződés folyamatának szabályozásában (184). Az FH-ra a fokozott oxidatív stressz és felgyorult érlelés mellett jellemző a csontképződés minőségi zavara is, elsősorban a csontsűrűség csökkenése, így ebben a betegségben az afamin szint vizsgálata különösen fontos lehet (185). Az LDL aferezis kezelés hatását szérumban afamin szintekre eddig még nem vizsgálták. Vizsgálatunk során azt találtuk, hogy FH betegekben a szérumban afamin szint lecsökkent az LDL aferezist követően, de csökkenés mértéke csupán átlagosan 9,4% volt. Ezzel párhuzamosan a HDL-C és ApoA1 szint szintén csökkent 10,5 és 14,1%-kal. Mindezt utalhatna arra, hogy az afamin csökkenése a HDL és ApoA1 szint csökkenéséből adódik. Valójában az afamin mindössze 13%-a keringő HDL-hez kötött formában, így ez önmagában nem magyarázza az afamin szint csökkenését. Ugyanakkor korábbi vizsgálatok azt igazolták, hogy az afamin döntően a kicsi, denz HDL részecskékhez asszociálva kering (166). Így a saját vizsgálatunk által is igazolt eltolódás a nagyobb HDL szubfrakciók irányába hozzájárulhat az afamin szint csökkenéséhez a kezelés során. Az oszlopról a kezelés végén leoldott eluátumban nem sikerült afamint kimutatni, melyből arra következtethetünk, hogy az aferezishez használt oszlop valószínűleg közvetett módon távolítja el a lipoproteinhez kötött afamint, és direkt kikötődés az oszlop felületén nem jön létre.

Az afaminról leírták, hogy *in vitro* és *vivo* kötődik az E-vitaminhoz több kötőhelyen keresztül. Különösen nagy affinitással kötődik az α - és γ -tokoferolhoz, amelyek a legfontosabb E-vitamin formák (165, 166). Ezért feltételeztük, hogy a korábbi vizsgálatokban leírt szelektív LDL aferezist követő α - és γ -tokoferol csökkenést (50, 169, 170) az afamin szint csökkenés okozhatja. Összhangban az eddigi eredményekkel azt találtuk, hogy az α - és γ -tokoferol szint jelentősen csökkent az FH-s betegekben az LDL aferezis kezelést követően. Az α -tokoferol/összkoleszterin és γ -tokoferol/összkoleszterin arány szignifikánsan emelkedett, mivel a koleszterinszint csökkenése kifejezettebb volt, mint a tokoferol szinteké. Az α - és γ -tokoferol szint csökkenésének mértéke szignifikánsan kifejezettebb volt az afamin szint csökkenéshez képest. Érdekes módon az FH-s betegek α - és γ -tokoferol szintjének csökkenése legjobban az LDL-C szint csökkenésével korrelált, és nem az afamin szint csökkenésével. Ezen eredmények alapján az afamin szintje nem meghatározó tényező az α - és γ -tokoferol szérumszintjeinek alakulásában. Az afamin aránylag szerény, míg az oxidált LDL markáns csökkenése közvetett bizonyítékot szolgáltat arra, hogy az afamin nem kötődik az oxidatív módon módosult LDL részecskékhez. A betegek magasabb α - és γ -tokoferol szintje az egészséges kontrollokéhoz viszonyítva egybevág korábbi vizsgálatok eredményeivel, amelyek magasabb E-vitamin szinteket írtak le hiperlipidémia esetén (186). Ezzel ellentétben egy másik tanulmány megállapította, hogy az FH betegek abszolút α -tokoferol szintje hasonló volt az egészséges kontrollokéhoz, míg az α -tokoferol/összkoleszterin arány jelentősen alacsonyabb volt FH-s betegekben (187). A genetikai heterogenitás és az eltérő lipidcsökkentő gyógyszeres kezelés magyarázhatja az egyes vizsgálatok közötti különbségeket. Az E-vitamin magas zsírolékonysága miatt a tokoferol szint összkoleszterin szinthez viszonyított aránya a szérumszint antioxidáns potenciáljának jobb indikátora lehet, mint a teljes tokoferol szint. Az aferezis utáni emelkedett α -tokoferol/összkoleszterin és γ -

tokoferol/összkoleszterin arány jelezheti a szérum antioxidáns potenciáljának emelkedését FH-s betegekben.

FH-s betegek esetében szignifikáns csökkenést találtunk az oxidált LDL szintben az LDL aferezis kezelést követően, ami az aferezis oxidatív folyamatokra kifejtett kedvező hatását jelzi. Ezen megfigyelésünk egybevág a korábbi irodalmi adatokkal (188-190). Vizsgálatunkban a betegek oxidált LDL szintje a kezelést követően még a kontrollokénál is alacsonyabb volt. LDL aferezis kezelés során az oxidált LDL szint kifejezett csökkenése, valamint az α - és γ -tokoferol/összkoleszterin arány emelkedése alapján arra következtethetünk, hogy az oxidált LDL nem csupán afaminban szegény, de kevés α - és γ -tokoferolt is tartalmaz FH betegekben. Ez azt sugallja, hogy az FH betegekben a magasabb α - és γ -tokoferol szint ellenére az oxidált LDL szubfrakciókban az α - és γ -tokoferol funkcionális hiánya alakulhat ki.

LDL aferezis során eltolódást tapasztaltunk a nagyobb HDL-szubfrakciók irányába. A HDL szubfrakciók aferezis során jelentkező változásait kevesen vizsgálták, és előzőleg különböző módszereket alkalmaztak a méréseikre, ezért ezeket az eredményeket nehéz összehasonlítani. Egy korábbi tanulmányban azt írták le, hogy az LDL aferezis csökkenti a pre- β 1-HDL szintjét familiáris hiperkoleszterinémiában, ami a koleszterin efflux kapacitás átmeneti kimerülését okozhatja (191). A megfigyelés hosszú távú klinikai jelentősége nem tisztázott. Vizsgálatunkban FH-s betegekben a kis HDL részecskék aferezis előtti aránya szignifikánsan magasabb volt, míg a kiindulási nagy HDL részecskék aránya szignifikánsan alacsonyabbnak bizonyult az egészséges kontrollokéhoz képest. Ezt az eltolódást a kis HDL részecskék irányába az aferezis kezelés részben korrigálta, rámutatva arra, hogy az aferezis kedvező hatással lehet a gél-elektroforézissel mért HDL szubfrakciók megoszlására.

Vizsgálatainkat illetően korlátozó tényező lehet a bevont egyének viszonylag kis száma, mely csökkenti tanulmányunk statisztikai erejét. Ugyanakkor eredményeink hangsúlyozzák az

aferezis kezelés non-lipid hatásainak potenciális jelentőségét. Továbbá a vizsgálatba bevont FH betegek kombinált statin és ezetimib kezelésben részesültek, amely befolyásolhatja az α - és γ -tokoferol szinteket (192). Meg kell azonban jegyezni, hogy az orális lipid csökkentő kezelések felfüggesztése ezekben a súlyos esetekben nem elfogadható.

A szelektív LDL aferezis kezelés chemerin és afamin szintekre gyakorolt hatását látva egyéb biológiailag aktív, hormonhatású fehérjék vizsgálatát is elvégeztük. A vizsgált peptidek között az érlemezés szempontjából védő és kedvezőtlen hatásúak egyaránt szerepeltek. A várakozásnak megfelelően minden vizsgált peptid szérum szintje csökkent az LDL aferezist követően, de a csökkenés mértékében észlelt különbségek igen szembetűnőek. A csökkenés a pro-atherogén visfatin és PEDF, illetve az anti-atherogén omentin-1 és vaspin esetén bizonyult szignifikáns mértékűnek. Mivel ezek a fehérjék egymásra is szabályozó hatást fejtenek ki, egyfajta hálózatot képezve a szabályozási folyamatokban (193), a jövőben indokolt lenne komplex formában történő vizsgálatuk. Eredményeink arra utalnak, hogy ez a szelektívnek gondolt extrakorporális eljárás sokkal jelentősebb és változatosabb hatást fejthet ki a betegekben, mint azt korábban feltételeztük. Az LDL aferezis kezelés lipidszintek csökkentése mellett módosítja az zsírszöveti, gasztrointesztinális és hepatikus eredetű bioaktív fehérjék arányát, mely további metabolikus módosulások kialakulásához vezethet.

A negyedik évtizede alkalmazott LDL aferezis kezelések hosszú távú kedvező hatása a szív- és érrendszeri események kialakulására már bizonyított (194, 195). Úgy tűnik, ez azonban a kezelés igen sokrétű, nem-lipid hatásainak is köszönhető. Az utóbbi években néhány új, igen hatékony lipidcsökkentő szer került bevezetésre az FH kezelésében. A PCSK9 gátló alirocumab alkalmazása az ODYSSEY ESCAPE tanulmányban csökkentette a betegek LDL aferezis igényét, gyakran ki is váltotta az LDL aferezis kezelést az LDL-C szintek csökkenése szempontjából (196). Az eddigi vizsgálatok alapján a PCSK9 gátlók alkalmazása FH-ban igen kedvezően befolyásolta a szív- és érrendszeri események kockázatát (197, 198). Felmerül

azonban a kérdés, hogy az aferezis kezelés non-lipid hatásai ugyanolyan sokrétűek-e, és néhány évtized elteltével is képesek-e jelentősen javítani az FH betegek életminőségén és életkilátásain. Homozigóta és súlyos heterozigóta betegek esetén még a legújabb lipidcsökkentők sem mindig elegendőek, illetve egyes betegek esetén a mellékhatások kialakulása miatt ezek nem alkalmazhatóak. Szemben a gyógyszeres kezeléssel, az aferezis biztonsággal elvégezhető terhes nők esetében is (199), és minden más kezelésnél hatékonyabban csökkenti az önálló kockázati tényezőként ismert lipoprotein(a) szintjét (200). Így az LDL aferezis kezelés továbbra is kiemelt jelentőségű az FH kezelésében. Minél többet tudunk a kezelés hatásáról, annál biztosabban alkalmazhatjuk ezt az eljárást ebben a súlyos, progresszív érrelmeszesedéssel és korai érszövődéssel járó betegségben, javítva a betegek életminőségét és életkilátásait.

8. Összefoglalás

A familiáris hiperkoleszterinémia (FH) egy veleszületett genetikai kórkép, mely jelentősen emelkedett szérumban low-density lipoprotein (LDL)-koleszterin (LDL-C) szinttel jár. A szelektív LDL aferezis egy extrakorporális lipidsökkentő eljárás, mely jelentősen csökkenti az LDL-C szintjét. A lipidsökkentésen túl az LDL aferezis egyéb kedvező, például anti-atherogén, antitrombotikus és anti-inflammatorikus hatásokkal is rendelkezik. Csökkenti emellett számos hormon hatású pro-és anti-inflammatorikus peptid és citokin szintjét. Eddig csak néhányan vizsgálták az LDL aferezis adipokin szintekre kifejtett hatását. A chemerin egy adipokin, mely az adipogenezist, a lipid- és glükóz anyagcserét szabályozza. Bár a zsírszövet és az emésztőrendszer által termelt hormonszerű peptidok szerepe egyre nyilvánvalóbb, számos adat, köztük a chemerin szintek változása sem ismert az LDL aferezis kezelés hatására. Az E-vitamin egy antioxidáns, melynek kedvező hatását feltételezik az érrelmeszesedés megelőzésében és kezelésében. A leginkább ismert formái az α - és γ -tokoferol. A humán afamin egy szérumban glikoprotein, melyet az E-vitamin specifikus kötő fehérjéjeként ismerünk, így az E vitamin testnedvekben történő szállításáért felelhet. Az afamint főként a máj termeli, majd a keringésben részben az apolipoprotein A1 (ApoA1)-t hordozó high-density lipoprotein (HDL) szubfrakciókhoz kötött. Az LDL aferezis hatására bekövetkező afamin szint változását eddig nem vizsgálták.

Hormon hatású peptidok (chemerin, leptin, adiponektin, visfatin, PEDF, omentin-1, obestatin, vaspin, RBP4), az afamin és az oxidált LDL szérumban szintjét vizsgáltuk ELISA módszerrel hat súlyos heterozigóta FH betegben közvetlenül életük első szelektív LDL aferezis (DALI) kezelése előtt és után. Az afamin és E vitamin szinteket nemben és korban illesztett kontrollokban is lemértük. Vizsgáltuk emellett a lipidszintek, az LDL és HDL szubfrakciók, valamint az α - és γ -tokoferol szintjének változását a kezelés hatására. Az LDL és HDL szubfrakciókat poliakril gélelektroforézissel (Lipoprint) vizsgáltuk. A szérumban α - és γ -

tokoferol szinteket gázkromatográf-tömegspektrométerrel detektáltuk. A DALI oszlophoz kötött chemerint eluáltuk és szintjét meghatároztuk.

Az első LDL aferezis kezelést követően szignifikánsan csökkent a szérumban a chemerin és oxidált LDL szintje (27,26%-kal, ill. 57,4%-kal). Hogy igazoljuk a chemerin DALI oszlophoz kötődését, a fehérjét különböző pH-értékű acetát puffer oldatokkal eluáltuk. Az első kezelés átlagosan csupán 9,4%-kal csökkentette a szérumban a chemerin szintjét. Ezzel párhuzamosan 10,5%-kal, ill. 14,1%-kal csökkent a HDL és az ApoA1 szintje. A kiindulási chemerin szint szignifikánsan magasabb volt a betegekben a kontrollokhoz képest. Míg az α - és γ -tokoferol szintek jelentősen csökkentek, az α - tokoferol/összkoleszterin és a γ -tokoferol/összkoleszterin arányok szignifikánsan emelkedtek a kezelés hatására. A kiindulási α - és γ -tokoferol szintek szignifikánsan magasabbak voltak a betegekben, ugyanakkor az α - tokoferol/összkoleszterin és a γ -tokoferol/összkoleszterin arányok hasonlóak voltak a betegekben és kontrollokban a kezelés előtt. Az egyéb vizsgált hormonhatású peptidok szérumban szintje is csökkent a kezelés hatására, de a változás csak a visfatin, PEDF, omentin-1 és vaspin szintek esetén volt szignifikáns mértékű. Az LDL aferezis kezelés jelentősen csökkentette a kisebb és sűrűbb LDL szubfrakciók szintjét. A kisebb HDL partikulumok aránya jelentősen csökkent, míg a nagy HDL partikulumoké kissé nőtt, így a HDL szubfrakciók aránya a nagyobb részecskék irányába tolódott el.

Igazoltuk az LDL aferezis kezelés jelentős hatását számos keringő hormonhatású peptid, köztük a chemerin szérumban szintjére. Demonstráltuk, hogy a chemerin csökkenés hátterében annak a kezelés során a DALI oszlophoz történő kikötődése áll. Eredményeink arra utalnak, hogy az α - és γ -tokoferol a keringésben elsősorban a lipoproteinekhez és kevésbé egyéb hordozó fehérjékhez, például az afaminhoz kötődik, amelynek szintje alig csökken az aferezis kezelés során. Az LDL aferezis ezen további, nem lipid hatásai hozzájárulhatnak a kardiovaszkuláris kockázat csökkentéséhez FH betegekben.

9. Summary

Familial hypercholesterolemia (FH) is an inherited genetic disease leading to extremely high serum low-density lipoprotein (LDL)-cholesterol (LDL-C) levels. Selective LDL apheresis is an extracorporeal lipid lowering therapy which significantly can reduce the LDL-C levels. Besides lipid lowering, other beneficial effects of LDL apheresis have been reported including anti-atherogenic, anti-thrombotic and anti-inflammatory actions. It also reduces the levels of several hormone-like pro- and anti-inflammatory peptides and cytokines. To date, only a few studies examined the impact of LDL apheresis on adipokine levels. Chemerin is an adipokine regulating adipogenesis, lipid and glucose metabolism. Although the importance of hormone-like peptides secreted by the adipose tissue and the gastrointestinal tract is increasing, there is no data on the impact of LDL apheresis on the serum levels of many pro- and anti-inflammatory peptides including chemerin. Vitamin E is an antioxidant suspected to be beneficial for prevention and/or treatment of atherosclerosis. The most studied forms are α - and γ -tocopherol. Human afamin is a serum glycoprotein, shown to be a specific binding protein for vitamin E potentially responsible for vitamin E transport in body fluids. Afamin is primarily expressed in the liver and secreted into the bloodstream where it is partially associated with apolipoprotein A1 (ApoA1)-containing high-density lipoprotein (HDL) subfractions. Changes in serum level of afamin during LDL apheresis have not been studied. The serum level of selected hormone-like peptides (chemerin, leptin, adiponectin, visfatin, PEDF, omentin-1, obestatin, vaspin, RBP4), afamin and oxidized LDL were measured by enzyme-linked immunosorbent assay in six severe heterozygous FH patients before and after their first LDL apheresis (DALI) treatments. Afamin and vitamin E levels were also evaluated in age- and gender-matched healthy controls. We also investigated the changes in lipid parameters, LDL and HDL subfractions, and α - and γ -tocopherol levels during the treatment. LDL and HDL subfractions were detected by polyacrylamide gel electrophoresis (Lipoprint).

Serum α - and γ -tocopherol levels were detected by gas chromatography-mass spectrometry.

We also eluted and then measured chemerin bound to the DALI column.

After the first LDL apheresis, serum chemerin and oxidized LDL levels significantly decreased (by 27.26 % and 57.4%, respectively). To prove that chemerin physically binds to the column, we eluted protein fractions from the apheresis column with acetate buffer solutions of different pH. The first treatment sessions of patients decreased serum afamin level only by an average of 9.4%. In parallel, HDL and ApoA1 levels decreased by 10.5% and 14.1%, respectively. The initial afamin level was significantly higher in FH patients compared to controls. We found that α - and γ -tocopherol levels markedly decreased, while α -tocopherol/cholesterol and γ -tocopherol/cholesterol ratios significantly increased. Initial α - and γ -tocopherol levels were significantly higher in patients compared to controls. In contrast, α - tocopherol/cholesterol and γ -tocopherol/cholesterol ratios were similar in patients before treatment to controls. Serum levels of all further hormone-like peptides decreased after the LDL apheresis treatment. However, only the reductions in visfatin, PEDF, omentin-1 and vaspin levels were significant. LDL apheresis markedly reduced the small dense LDL subfractions. Ratio of small HDL particles significantly decreased, while ratio of large HDL particles slightly increased resulting in a shift towards the larger HDL subfractions after apheresis.

We proved the impact of LDL apheresis on circulating levels of several hormone-like peptides including chemerin. We also demonstrated that the chemerin lowering effect can be explained by the binding of the protein to the adsorber column during LDL apheresis. Our results suggest that α - and γ -tocopherol are associated mostly with lipoproteins and less importantly with other carriers such as afamin that are minimally removed during apheresis treatment. These additional effects of LDL apheresis may result in further cardiovascular risk reduction in FH patients.

10. Irodalomjegyzék

1. Márk L, Harangi M, Paragh G. The labyrinth of residual risk: reduction of the remaining lipid and inflammation risk in the prevention of atherosclerosis. *Orv Hetil.* 2018;159(4):124-30.
2. Brautbar A, Leary E, Rasmussen K, Wilson DP, Steiner RD, Virani S. Genetics of familial hypercholesterolemia. *Curr Atheroscler Rep.* 2015;17(4):491.
3. Ose L. Müller-Harbitz disease--familial hypercholesterolemia. *Tidsskr Nor Laegeforen.* 2002;122(9):924-5.
4. Goldstein JL, Brown MS. Familial hypercholesterolemia: identification of a defect in the regulation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase activity associated with overproduction of cholesterol. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1973;70(10):2804-8.
5. Brown MS, Goldstein JL. Familial hypercholesterolemia: defective binding of lipoproteins to cultured fibroblasts associated with impaired regulation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase activity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1974;71(3):788-92.
6. Goldstein JL, Brown MS. The LDL receptor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2009;29(4):431-8.
7. Sniderman AD, Tsimikas S, Fazio S. The severe hypercholesterolemia phenotype: clinical diagnosis, management, and emerging therapies. *J Am Coll Cardiol.* 2014;63(19):1935-47.
8. Vogt A. The genetics of familial hypercholesterolemia and emerging therapies. *Appl Clin Genet.* 2015;8:27-36.
9. Vallejo-Vaz AJ, Kondapally Seshasai SR, Cole D, Hovingh GK, Kastelein JJ, Mata P, et al. Familial hypercholesterolaemia: A global call to arms. *Atherosclerosis.* 2015;243(1):257-9.
10. Henderson R, O'Kane M, McGilligan V, Watterson S. The genetics and screening of familial hypercholesterolaemia. *J Biomed Sci.* 2016;23:39.
11. De Castro-Orós I, Pocoví M, Civeira F. The genetic basis of familial hypercholesterolemia: inheritance, linkage, and mutations. *Appl Clin Genet.* 2010;3:53-64.
12. Schmitz G, Orsó E. Lipoprotein(a) hyperlipidemia as cardiovascular risk factor: pathophysiological aspects. *Clin Res Cardiol Suppl.* 2015;10:21-5.

13. Romagnuolo R, Scipione CA, Marcovina SM, Gemin M, Seidah NG, Boffa MB, et al. Roles of the low density lipoprotein receptor and related receptors in inhibition of lipoprotein(a) internalization by proprotein convertase subtilisin/kexin type 9. *PLoS One*. 2017;12(7):e0180869.
14. Awan Z, Baass A, Genest J. Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9): lessons learned from patients with hypercholesterolemia. *Clin Chem*. 2014;60(11):1380-9.
15. Leigh S, Futema M, Whittall R, Taylor-Beadling A, Williams M, den Dunnen JT, et al. The UCL low-density lipoprotein receptor gene variant database: pathogenicity update. *J Med Genet*. 2017;54(4):217-23.
16. Graham CA, Latten MJ, Hart PJ. Molecular diagnosis of familial hypercholesterolaemia. *Curr Opin Lipidol*. 2017;28(4):313-20.
17. Foody JM, Vishwanath R. Familial hypercholesterolemia/autosomal dominant hypercholesterolemia: Molecular defects, the LDL-C continuum, and gradients of phenotypic severity. *J Clin Lipidol*. 2016;10(4):970-86.
18. Innerarity TL, Weisgraber KH, Arnold KS, Mahley RW, Krauss RM, Vega GL, et al. Familial defective apolipoprotein B-100: low density lipoproteins with abnormal receptor binding. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1987;84(19):6919-23.
19. Abifadel M, Rabès JP, Devillers M, Munnich A, Erlich D, Junien C, et al. Mutations and polymorphisms in the proprotein convertase subtilisin kexin 9 (PCSK9) gene in cholesterol metabolism and disease. *Hum Mutat*. 2009;30(4):520-9.
20. Abifadel M, Varret M, Rabès JP, Allard D, Ouguerram K, Devillers M, et al. Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. *Nat Genet*. 2003;34(2):154-6.
21. Fouchier SW, Dallinga-Thie GM, Meijers JC, Zelcer N, Kastelein JJ, Defesche JC, et al. Mutations in STAP1 are associated with autosomal dominant hypercholesterolemia. *Circ Res*. 2014;115(6):552-5.
22. Garcia CK, Wilund K, Arca M, Zuliani G, Fellin R, Maioli M, et al. Autosomal recessive hypercholesterolemia caused by mutations in a putative LDL receptor adaptor protein. *Science*. 2001;292(5520):1394-8.
23. Brahm AJ, Hegele RA. Combined hyperlipidemia: familial but not (usually) monogenic. *Curr Opin Lipidol*. 2016;27(2):131-40.
24. Stone NJ. Secondary causes of hyperlipidemia. *Med Clin North Am*. 1994;78(1):117-41.

25. Al-Rasadi K, Al-Waili K, Al-Sabti HA, Al-Hinai A, Al-Hashmi K, Al-Zakwani I, et al. Criteria for Diagnosis of Familial Hypercholesterolemia: A Comprehensive Analysis of the Different Guidelines, Appraising their Suitability in the Omani Arab Population. *Oman Med J*. 2014;29(2):85-91.
26. Austin MA, Hutter CM, Zimmern RL, Humphries SE. Genetic causes of monogenic heterozygous familial hypercholesterolemia: a HuGE prevalence review. *Am J Epidemiol*. 2004;160(5):407-20.
27. Risk of fatal coronary heart disease in familial hypercholesterolaemia. Scientific Steering Committee on behalf of the Simon Broome Register Group. *BMJ*. 1991;303(6807):893-6.
28. Williams RR, Hunt SC, Schumacher MC, Hegele RA, Leppert MF, Ludwig EH, et al. Diagnosing heterozygous familial hypercholesterolemia using new practical criteria validated by molecular genetics. *Am J Cardiol*. 1993;72(2):171-6.
29. Nordestgaard BG, Chapman MJ, Humphries SE, Ginsberg HN, Masana L, Descamps OS, et al. Familial hypercholesterolaemia is underdiagnosed and undertreated in the general population: guidance for clinicians to prevent coronary heart disease: consensus statement of the European Atherosclerosis Society. *Eur Heart J*. 2013;34(45):3478-90a.
30. Galema-Boers AM, Lenzen MJ, Engelkes SR, Sijbrands EJ, Roeters van Lennep JE. Cardiovascular risk in patients with familial hypercholesterolemia using optimal lipid-lowering therapy. *J Clin Lipidol*. 2018;12(2):409-16.
31. Thompson PD, Panza G, Zaleski A, Taylor B. Statin-Associated Side Effects. *J Am Coll Cardiol*. 2016;67(20):2395-410.
32. Abd TT, Jacobson TA. Statin-induced myopathy: a review and update. *Expert Opin Drug Saf*. 2011;10(3):373-87.
33. Kennedy SP, Barnas GP, Schmidt MJ, Gliszinski MS, Paniagua AC. Efficacy and tolerability of once-weekly rosuvastatin in patients with previous statin intolerance. *J Clin Lipidol*. 2011;5(4):308-15.
34. Raal FJ, Hovingh GK, Catapano AL. Familial hypercholesterolemia treatments: Guidelines and new therapies. *Atherosclerosis*. 2018;277:483-92.
35. van der Graaf A, Cuffie-Jackson C, Vissers MN, Trip MD, Gagné C, Shi G, et al. Efficacy and safety of coadministration of ezetimibe and simvastatin in adolescents with heterozygous familial hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol*. 2008;52(17):1421-9.
36. 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):508-19.

37. Meng CQ. Ezetimibe. Schering-Plough. *Curr Opin Investig Drugs*. 2002;3(3):427-32.
38. Chaudhary R, Garg J, Shah N, Sumner A. PCSK9 inhibitors: A new era of lipid lowering therapy. *World J Cardiol*. 2017;9(2):76-91.
39. Einarsson K, Ericsson S, Ewerth S, Reihner E, Rudling M, Ståhlberg D, et al. Bile acid sequestrants: mechanisms of action on bile acid and cholesterol metabolism. *Eur J Clin Pharmacol*. 1991;40 Suppl 1:S53-8.
40. Julius U, Fischer S. Nicotinic acid as a lipid-modifying drug--a review. *Atheroscler Suppl*. 2013;14(1):7-13.
41. Raal FJ, Santos RD, Blom DJ, Marais AD, Charng MJ, Cromwell WC, et al. Mipomersen, an apolipoprotein B synthesis inhibitor, for lowering of LDL cholesterol concentrations in patients with homozygous familial hypercholesterolaemia: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2010;375(9719):998-1006.
42. Cuchel M, Meagher EA, du Toit Theron H, Blom DJ, Marais AD, Hegele RA, et al. Efficacy and safety of a microsomal triglyceride transfer protein inhibitor in patients with homozygous familial hypercholesterolaemia: a single-arm, open-label, phase 3 study. *Lancet*. 2013;381(9860):40-6.
43. Nemati MH, Astaneh B. Optimal management of familial hypercholesterolemia: treatment and management strategies. *Vasc Health Risk Manag*. 2010;6:1079–1088.
44. Thompson GR, Lowenthal R, Myant NB. Plasma exchange in the management of homozygous familial hypercholesterolaemia. *Lancet*. 1975;1(7918):1208-11.
45. Usami M, Horiuchi T, Emura M, Malchesky PS, Naito HK, Gerrity RG, et al. Thermal effect of LDL/HDL separation in membrane filtration; thermofiltration. *Trans Am Soc Artif Intern Organs*. 1985;31:716-21.
46. Stoffel W, Demant T. Selective removal of apolipoprotein B-containing serum lipoproteins from blood plasma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1981;78(1):611-5.
47. Pokrovsky SN, Afanasieva OI, Safarova MS, Balakhonova TV, Matchin YG, Adamova IYU, et al. Specific Lp(a) apheresis: A tool to prove lipoprotein(a) atherogenicity. *Atheroscler Suppl*. 2017;30:166-73.
48. Mabuchi H, Michishita I, Takeda M, Fujita H, Koizumi J, Takeda R, et al. A new low density lipoprotein apheresis system using two dextran sulfate cellulose columns in an automated column regenerating unit (LDL continuous apheresis). *Atherosclerosis*. 1987;68(1-2):19-25.
49. Otto C, Kern P, Bambauer R, Kallert S, Schwandt P, Parhofer KG. Efficacy and safety of a new whole-blood low-density lipoprotein apheresis system (Liposorber D) in severe hypercholesterolemia. *Artif Organs*. 2003;27(12):1116-22.

50. Armstrong VW, Windisch M, Wieland H, Fuchs C, Rieger J, Köstering H, et al. Selective continuous extracorporeal elimination of low-density lipoproteins with heparin at acidic pH. *Trans Am Soc Artif Intern Organs*. 1983;29:323-8.
51. van Buuren F, Kreickmann S, Horstkotte D, Kottmann T, Mellwig KP. HELP apheresis in hypercholesterolemia and cardiovascular disease: efficacy and adverse events after 8,500 procedures. *Clin Res Cardiol Suppl*. 2012;7:24-30.
52. Bosch T, Gahr S, Belschner U, Schaefer C, Lennertz A, Rammo J, et al. Direct adsorption of low-density lipoprotein by DALI-LDL-apheresis: results of a prospective long-term multicenter follow-up covering 12,291 sessions. *Ther Apher Dial*. 2006;10(3):210-8.
53. Dittrich-Riediger J, Schatz U, Hohenstein B, Julius U. Adverse events of lipoprotein apheresis and immunoabsorption at the Apheresis Center at the University Hospital Dresden. *Atheroscler Suppl*. 2015;18:45-52.
54. Otto C, Berster J, Otto B, Parhofer KG. Effects of two whole blood systems (DALI and Liposorber D) for LDL apheresis on lipids and cardiovascular risk markers in severe hypercholesterolemia. *J Clin Apher*. 2007;22(6):301-5.
55. Stefanutti C, Morozzi C, Petta A. Lipid and low-density-lipoprotein apheresis. Effects on plasma inflammatory profile and on cytokine pattern in patients with severe dyslipidemia. *Cytokine*. 2011;56(3):842-9.
56. Leitner GC, Roob JM, Bahadori B, Wallner S, Wascher TC. Leptin deficiency due to lipid apheresis: a possible reason for ravenous hunger and weight gain. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2000;24(2):259-60.
57. Krautbauer S, Neumeier M, Eisinger K, Hader Y, Dada A, Schmitz G, et al. LDL but not HDL increases adiponectin release of primary human adipocytes. *Exp Mol Pathol*. 2013;95(3):325-9.
58. Fatima SS, Rehman R, Baig M, Khan TA. New roles of the multidimensional adipokine: chemerin. *Peptides*. 2014;62:15-20.
59. Mattern A, Zellmann T, Beck-Sickinger AG. Processing, signaling, and physiological function of chemerin. *IUBMB Life*. 2014;66(1):19-26.
60. Ernst MC, Sinal CJ. Chemerin: at the crossroads of inflammation and obesity. *Trends Endocrinol Metab*. 2010;21(11):660-7.
61. Rhee EJ. Chemerin: A Novel Link between Inflammation and Atherosclerosis? *Diabetes Metab J*. 2011;35(3):216-8.

62. Aksan G, İnci S, Nar G, Soylu K, Gedikli Ö, Yüksel S, et al. Association of serum chemerin levels with the severity of coronary artery disease in patients with metabolic syndrome. *Int J Clin Exp Med*. 2014;7(12):5461-8.
63. Yoshimura T, Oppenheim JJ. Chemokine-like receptor 1 (CMKLR1) and chemokine (C-C motif) receptor-like 2 (CCRL2); two multifunctional receptors with unusual properties. *Exp Cell Res*. 2011;317(5):674-84.
64. Yamawaki H. Vascular effects of novel adipocytokines: focus on vascular contractility and inflammatory responses. *Biol Pharm Bull*. 2011;34(3):307-10.
65. Lőrincz H, Katkó M, Harangi M, Somodi S, Gaál K, Fülöp P, et al. Strong correlations between circulating chemerin levels and lipoprotein subfractions in nondiabetic obese and nonobese subjects. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2014;81(3):370-7.
66. Lichenstein HS, Lyons DE, Wurfel MM, Johnson DA, McGinley MD, Leidli JC, et al. Afamin is a new member of the albumin, alpha-fetoprotein, and vitamin D-binding protein gene family. *J Biol Chem*. 1994;269(27):18149-54.
67. Voegele AF, Jerković L, Wellenzohn B, Eller P, Kronenberg F, Liedl KR, et al. Characterization of the vitamin E-binding properties of human plasma afamin. *Biochemistry*. 2002;41(49):14532-8.
68. Jerkovic L, Voegele AF, Chwatal S, Kronenberg F, Radcliffe CM, Wormald MR, et al. Afamin is a novel human vitamin E-binding glycoprotein characterization and in vitro expression. *J Proteome Res*. 2005;4(3):889-99.
69. Niki E. Do free radicals play causal role in atherosclerosis? Low density lipoprotein oxidation and vitamin E revisited. *J Clin Biochem Nutr*. 2011;48(1):3-7.
70. Armstrong VW, Niedmann D, Eisenhauer T, Janning G, Wagner H, Schuff-Werner P, et al. Acute and long-term effects of low-density lipoprotein apheresis on the serum concentrations of vitamins E and A. *Klin Wochenschr*. 1988;66(3):123-8.
71. Cauza E, Jansen M, Resch U, Dunky A, Derfler K, Winklhofer-Roob BM, et al. Effects of LDL-immunoapheresis on plasma concentrations of vitamin E and carotenoids in patients with familial hypercholesterolemia. *J Clin Apher*. 2004;19(4):174-9.
72. Solichová D, Bláha M, Aufartová J, Krcmová LK, Plíšek J, Honegrová B, et al. The Effect of LDL-Apheresis and Rheohaemapheresis Treatment on Vitamin E. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*. 2015;61(2):105-12.
73. Wolf G. Identification of a membrane receptor for retinol-binding protein functioning in the cellular uptake of retinol. *Nutr Rev*. 2007;65(8 Pt 1):385-8.

74. Zovich DC, Orologa A, Okuno M, Kong LW, Talmage DA, Piantedosi R, et al. Differentiation-dependent expression of retinoid-binding proteins in BFC-1 beta adipocytes. *J Biol Chem.* 1992;267(20):13884-9.
75. Lee DC, Lee JW, Im JA. Association of serum retinol binding protein 4 and insulin resistance in apparently healthy adolescents. *Metabolism.* 2007;56(3):327-31.
76. Aeberli I, Biebinger R, Lehmann R, L'Allemand D, Spinass GA, Zimmermann MB. Serum retinol-binding protein 4 concentration and its ratio to serum retinol are associated with obesity and metabolic syndrome components in children. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92(11):4359-65.
77. Reinehr T, Stoffel-Wagner B, Roth CL. Retinol-binding protein 4 and its relation to insulin resistance in obese children before and after weight loss. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(6):2287-93.
78. Graham TE, Yang Q, Bluher M, Hammarstedt A, Ciaraldi TP, Henry RR, et al. Retinol-binding protein 4 and insulin resistance in lean, obese, and diabetic subjects. *N Engl J Med.* 2006;354(24):2552-63.
79. Jia W, Wu H, Bao Y, Wang C, Lu J, Zhu J, et al. Association of serum retinol-binding protein 4 and visceral adiposity in Chinese subjects with and without type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92(8):3224-9.
80. Gavi S, Qurashi S, Stuart LM, Lau R, Melendez MM, Mynarcik DC, et al. Influence of age on the association of retinol-binding protein 4 with metabolic syndrome. *Obesity (Silver Spring).* 2008;16(4):893-5.
81. von Eynatten M, Lepper PM, Liu D, Lang K, Baumann M, Nawroth PP, et al. Retinol-binding protein 4 is associated with components of the metabolic syndrome, but not with insulin resistance, in men with type 2 diabetes or coronary artery disease. *Diabetologia.* 2007;50(9):1930-7.
82. Cabre A, Lazaro I, Girona J, Manzanares J, Marimon F, Plana N, et al. Retinol-binding protein 4 as a plasma biomarker of renal dysfunction and cardiovascular disease in type 2 diabetes. *J Intern Med.* 2007;262(4):496-503.
83. Solini A, Santini E, Madec S, Rossi C, Muscelli E. Retinol-binding protein-4 in women with untreated essential hypertension. *Am J Hypertens.* 2009;22(9):1001-6.
84. Kadoglou NP, Lambadiari V, Gastouniotti A, Gkekas C, Giannakopoulos TG, Koulia K, et al. The relationship of novel adipokines, RBP4 and omentin-1, with carotid atherosclerosis severity and vulnerability. *Atherosclerosis.* 2014;235(2):606-12.

85. Bobbert P, Weithauser A, Andres J, Bobbert T, Kuhl U, Schultheiss HP, et al. Increased plasma retinol binding protein 4 levels in patients with inflammatory cardiomyopathy. *Eur J Heart Fail.* 2009;11(12):1163-8.
86. Lambadiari V, Kadoglou NP, Stasinou V, Maratou E, Antoniadis A, Kolokathis F, et al. Serum levels of retinol-binding protein-4 are associated with the presence and severity of coronary artery disease. *Cardiovasc Diabetol.* 2014;13:121.
87. Chavarria N, Kato TS, Khan R, Chokshi A, Collado E, Akashi H, et al. Increased levels of retinol binding protein 4 in patients with advanced heart failure correct after hemodynamic improvement through ventricular assist device placement. *Circ J.* 2012;76(9):2148-52.
88. Alkharfy KM, Al-Daghri NM, Vanhoutte PM, Krishnaswamy S, Xu A. Serum retinol-binding protein 4 as a marker for cardiovascular disease in women. *PLoS One.* 2012;7(10):e48612.
89. Mahmoudi MJ, Mahmoudi M, Siassi F, Hedayat M, Pasalar P, Chamari M, et al. Circulating retinol-binding protein 4 concentrations in patients with coronary artery disease and patients with type 2 diabetes mellitus.
90. Codoner-Franch P, Mora-Herranz A, Simo-Jorda R, Perez-Rambla C, Boix-Garcia L, Faus-Perez A. Retinol-binding protein 4 levels are associated with measures of liver and renal function and oxidant/antioxidant status in obese children. *J Pediatr.* 2013;163(2):593-5.
91. Dawson DW, Volpert OV, Gillis P, Crawford SE, Xu H, Benedict W, et al. Pigment epithelium-derived factor: a potent inhibitor of angiogenesis. *Science.* 1999;285(5425):245-8.
92. Cai J, Jiang WG, Grant MB, Boulton M. Pigment epithelium-derived factor inhibits angiogenesis via regulated intracellular proteolysis of vascular endothelial growth factor receptor 1. *J Biol Chem.* 2006;281(6):3604-13.
93. Famulla S, Lamers D, Hartwig S, Passlack W, Horrihs A, Cramer A, et al. Pigment epithelium-derived factor (PEDF) is one of the most abundant proteins secreted by human adipocytes and induces insulin resistance and inflammatory signaling in muscle and fat cells. *Int J Obes (Lond).* 2011;35(6):762-72.
94. Subramanian P, Notario PM, Becerra SP. Pigment epithelium-derived factor receptor (PEDF-R): a plasma membrane-linked phospholipase with PEDF binding affinity. *Adv Exp Med Biol.* 2010;664:29-37.
95. Yoshida T, Yamagishi S, Nakamura K, Matsui T, Imaizumi T, Takeuchi M, et al. Pigment epithelium-derived factor (PEDF) ameliorates advanced glycation end product

- (AGE)-induced hepatic insulin resistance in vitro by suppressing Rac-1 activation. *Horm Metab Res.* 2008;40(9):620-5.
96. Liu J, Wang S, Shi J, Guo Y, Tao T, Zhu P. The association study of plasma levels of pigment epithelium-derived factor with acute coronary syndrome in the chinese han population. *Cardiology.* 2014;127(1):31-7.
 97. Takenaka K, Yamagishi S, Matsui T, Nakamura K, Jinnouchi Y, Yoshida Y, et al. Pigment epithelium-derived factor (PEDF) administration inhibits occlusive thrombus formation in rats: a possible participation of reduced intraplatelet PEDF in thrombosis of acute coronary syndromes. *Atherosclerosis.* 2008;197(1):25-33.
 98. Wang SH, Liang CJ, Wu JC, Huang JJ, Chien HF, Tsai JS, et al. Pigment epithelium-derived factor reduces the PDGF-induced migration and proliferation of human aortic smooth muscle cells through PPARgamma activation. *Int J Biochem Cell Biol.* 2012;44(2):280-9.
 99. Yamawaki T, Ito E, Mukai A, Ueno M, Yamada J, Sotozono C, et al. The Ingenious Interactions Between Macrophages and Functionally Plastic Retinal Pigment Epithelium Cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2016;57(14):5945-53.
 100. Zhang SX, Wang JJ, Gao G, Shao C, Mott R, Ma JX. Pigment epithelium-derived factor (PEDF) is an endogenous antiinflammatory factor. *Faseb j.* 2006;20(2):323-5.
 101. Wen H, Liu M, Liu Z, Yang X, Liu X, Ni M, et al. PEDF improves atherosclerotic plaque stability by inhibiting macrophage inflammation response. *Int J Cardiol.* 2017;235:37-41.
 102. Fukuhara A, Matsuda M, Nishizawa M, Segawa K, Tanaka M, Kishimoto K, et al. Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin. *Science.* 2005;307(5708):426-30.
 103. Curat CA, Wegner V, Sengenès C, Miranville A, Tonus C, Busse R, et al. Macrophages in human visceral adipose tissue: increased accumulation in obesity and a source of resistin and visfatin. *Diabetologia.* 2006;49(4):744-7.
 104. Dahl TB, Yndestad A, Skjelland M, Oie E, Dahl A, Michelsen A, et al. Increased expression of visfatin in macrophages of human unstable carotid and coronary atherosclerosis: possible role in inflammation and plaque destabilization. *Circulation.* 2007;115(8):972-80.
 105. Takebayashi K, Suetsugu M, Wakabayashi S, Aso Y, Inukai T. Association between plasma visfatin and vascular endothelial function in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism.* 2007;56(4):451-8.

106. Romacho T, Azcutia V, Vazquez-Bella M, Matesanz N, Cercas E, Nevado J, et al. Extracellular PBEF/NAMPT/visfatin activates pro-inflammatory signalling in human vascular smooth muscle cells through nicotinamide phosphoribosyltransferase activity. *Diabetologia*. 2009;52(11):2455-63.
107. Adya R, Tan BK, Chen J, Randeve HS. Nuclear factor-kappaB induction by visfatin in human vascular endothelial cells: its role in MMP-2/9 production and activation. *Diabetes Care*. 2008;31(4):758-60.
108. Moschen AR, Kaser A, Enrich B, Mosheimer B, Theurl M, Niederegger H, et al. Visfatin, an adipocytokine with proinflammatory and immunomodulating properties. *J Immunol*. 2007;178(3):1748-58.
109. Varma V, Yao-Borengasser A, Rasouli N, Bodles AM, Phanavanh B, Lee MJ, et al. Human visfatin expression: relationship to insulin sensitivity, intramyocellular lipids, and inflammation. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92(2):666-72.
110. Mantzoros CS, Magkos F, Brinkoetter M, Sienkiewicz E, Dardeno TA, Kim SY, et al. Leptin in human physiology and pathophysiology. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2011;301(4):E567-84.
111. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*. 1994;372(6505):425-32.
112. Elmquist JK, Ahima RS, Elias CF, Flier JS, Saper CB. Leptin activates distinct projections from the dorsomedial and ventromedial hypothalamic nuclei. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998;95(2):741-6.
113. Crujeiras AB, Carreira MC, Cobia B, Andrade S, Amil M, Casanueva FF. Leptin resistance in obesity: An epigenetic landscape. *Life Sci*. 2015;140:57-63.
114. Korda M, Kubant R, Patton S, Malinski T. Leptin-induced endothelial dysfunction in obesity. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2008;295(4):H1514-21.
115. Blanca AJ, Ruiz-Armenta MV, Zambrano S, Salsoso R, Miguel-Carrasco JL, Fortuno A, et al. Leptin Induces Oxidative Stress Through Activation of NADPH Oxidase in Renal Tubular Cells: Antioxidant Effect of L-Carnitine. *J Cell Biochem*. 2016;117(10):2281-8.
116. Fortuno A, Bidegain J, Baltanas A, Moreno MU, Montero L, Landecheo MF, et al. Is leptin involved in phagocytic NADPH oxidase overactivity in obesity? Potential clinical implications. *J Hypertens*. 2010;28(9):1944-50.
117. Moreau JM, Messenger SA, Ciriello J. Effects of angiotensin II on leptin and downstream leptin signaling in the carotid body during acute intermittent hypoxia. *Neuroscience*. 2015;310:430-41.

118. Agrawal S, Gollapudi S, Su H, Gupta S. Leptin activates human B cells to secrete TNF- α , IL-6, and IL-10 via JAK2/STAT3 and p38MAPK/ERK1/2 signaling pathway. *J Clin Immunol*. 2011;31(3):472-8.
119. Conde J, Scotece M, López V, Gómez R, Lago F, Pino J, et al. Adiponectin and leptin induce VCAM-1 expression in human and murine chondrocytes. *PLoS One*. 2012;7(12):e52533.
120. Manuel-Apolinar L, López-Romero R, Zarate A, Damasio L, Ruiz M, Castillo-Hernández C, et al. Leptin mediated ObRb receptor increases expression of adhesion intercellular molecules and cyclooxygenase 2 on murine aorta tissue inducing endothelial dysfunction. *Int J Clin Exp Med*. 2013;6(3):192-6.
121. Taniguchi A, Fukushima M, Nakai Y, Kuroe A, Yamano G, Yanagawa T, et al. Soluble E-selectin, leptin, triglycerides, and insulin resistance in nonobese Japanese type 2 diabetic patients. *Metabolism*. 2005;54(3):376-80.
122. Nakata M, Yada T, Soejima N, Maruyama I. Leptin promotes aggregation of human platelets via the long form of its receptor. *Diabetes*. 1999;48(2):426-9.
123. Singh P, Peterson TE, Barber KR, Kuniyoshi FS, Jensen A, Hoffmann M, et al. Leptin upregulates the expression of plasminogen activator inhibitor-1 in human vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010;392(1):47-52.
124. Scherer PE, Williams S, Fogliano M, Baldini G, Lodish HF. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *J Biol Chem*. 1995;270(45):26746-9.
125. Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, Tsuchida A, Yokomizo T, Kita S, et al. Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature*. 2003;423(6941):762-9.
126. Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa J, et al. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun*. 1999;257(1):79-83.
127. Ryo M, Nakamura T, Kihara S, Kumada M, Shibazaki S, Takahashi M, et al. Adiponectin as a biomarker of the metabolic syndrome. *Circ J*. 2004;68(11):975-81.
128. Yatagai T, Nagasaka S, Taniguchi A, Fukushima M, Nakamura T, Kuroe A, et al. Hypoadiponectinemia is associated with visceral fat accumulation and insulin resistance in Japanese men with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism*. 2003;52(10):1274-8.
129. Pischon T, Girman CJ, Hotamisligil GS, Rifai N, Hu FB, Rimm EB. Plasma adiponectin levels and risk of myocardial infarction in men. *Jama*. 2004;291(14):1730-7.

130. Kumada M, Kihara S, Sumitsuji S, Kawamoto T, Matsumoto S, Ouchi N, et al. Association of hypo adiponectinemia with coronary artery disease in men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23(1):85-9.
131. Yamauchi T, Kamon J, Waki H, Terauchi Y, Kubota N, Hara K, et al. The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipoatrophy and obesity. *Nat Med.* 2001;7(8):941-6.
132. Matsuzawa Y, Funahashi T, Kihara S, Shimomura I. Adiponectin and metabolic syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004;24(1):29-33.
133. Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Maeda K, Kuriyama H, Okamoto Y, et al. Novel modulator for endothelial adhesion molecules: adipocyte-derived plasma protein adiponectin. *Circulation.* 1999;100(25):2473-6.
134. Krakoff J, Funahashi T, Stehouwer CD, Schalkwijk CG, Tanaka S, Matsuzawa Y, et al. Inflammatory markers, adiponectin, and risk of type 2 diabetes in the Pima Indian. *Diabetes Care.* 2003;26(6):1745-51.
135. van Stijn CM, Kim J, Luscis AJ, Barish GD, Tangirala RK. Macrophage polarization phenotype regulates adiponectin receptor expression and adiponectin anti-inflammatory response. *Faseb j.* 2015;29(2):636-49.
136. Ramezani-Moghadam M, Wang J, Ho V, Iseli TJ, Alzahrani B, Xu A, et al. Adiponectin reduces hepatic stellate cell migration by promoting tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) secretion. *J Biol Chem.* 2015;290(9):5533-42.
137. Chen H, Montagnani M, Funahashi T, Shimomura I, Quon MJ. Adiponectin stimulates production of nitric oxide in vascular endothelial cells. *J Biol Chem.* 2003;278(45):45021-6.
138. Mandal P, Pratt BT, Barnes M, McMullen MR, Nagy LE. Molecular mechanism for adiponectin-dependent M2 macrophage polarization: link between the metabolic and innate immune activity of full-length adiponectin. *J Biol Chem.* 2011;286(15):13460-9.
139. Sag D, Carling D, Stout RD, Suttles J. Adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase promotes macrophage polarization to an anti-inflammatory functional phenotype. *J Immunol.* 2008;181(12):8633-41.
140. Hiramatsu-Ito M, Shibata R, Ohashi K, Uemura Y, Kanemura N, Kambara T, et al. Omentin attenuates atherosclerotic lesion formation in apolipoprotein E-deficient mice. *Cardiovasc Res.* 2016;110(1):107-17.
141. Komura N, Maeda N, Mori T, Kihara S, Nakatsuji H, Hirata A, et al. Adiponectin protein exists in aortic endothelial cells. *PLoS One.* 2013;8(8):e71271.

142. Schaffler A, Neumeier M, Herfarth H, Furst A, Scholmerich J, Buchler C. Genomic structure of human omentin, a new adipocytokine expressed in omental adipose tissue. *Biochim Biophys Acta*. 2005;1732(1-3):96-102.
143. de Souza Batista CM, Yang RZ, Lee MJ, Glynn NM, Yu DZ, Pray J, et al. Omentin plasma levels and gene expression are decreased in obesity. *Diabetes*. 2007;56(6):1655-61.
144. Auguet T, Quintero Y, Riesco D, Morancho B, Terra X, Crescenti A, et al. New adipokines vaspin and omentin. Circulating levels and gene expression in adipose tissue from morbidly obese women. *BMC Med Genet*. 2011;12:60.
145. Yang RZ, Lee MJ, Hu H, Pray J, Wu HB, Hansen BC, et al. Identification of omentin as a novel depot-specific adipokine in human adipose tissue: possible role in modulating insulin action. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2006;290(6):E1253-61.
146. Maruyama S, Shibata R, Kikuchi R, Izumiya Y, Rokutanda T, Araki S, et al. Fat-derived factor omentin stimulates endothelial cell function and ischemia-induced revascularization via endothelial nitric oxide synthase-dependent mechanism. *J Biol Chem*. 2012;287(1):408-17.
147. Kazama K, Okada M, Hara Y, Yamawaki H. A novel adipocytokine, omentin, inhibits agonists-induced increases of blood pressure in rats. *J Vet Med Sci*. 2013;75(8):1029-34.
148. Tan BK, Adya R, Farhatullah S, Chen J, Lehnert H, Randeve HS. Metformin treatment may increase omentin-1 levels in women with polycystic ovary syndrome. *Diabetes*. 2010;59(12):3023-31.
149. Saely CH, Leherer A, Muendlein A, Vonbank A, Rein P, Geiger K, et al. High plasma omentin predicts cardiovascular events independently from the presence and extent of angiographically determined atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2016;244:38-43.
150. Rabe K, Lehrke M, Parhofer KG, Broedl UC. Adipokines and insulin resistance. *Mol Med*. 2008;14(11-12):741-51.
151. Hida K, Wada J, Zhang H, Hiragushi K, Tsuchiyama Y, Shikata K, et al. Identification of genes specifically expressed in the accumulated visceral adipose tissue of OLETF rats. *J Lipid Res*. 2000;41(10):1615-22.
152. Hida K, Wada J, Eguchi J, Zhang H, Baba M, Seida A, et al. Visceral adipose tissue-derived serine protease inhibitor: a unique insulin-sensitizing adipocytokine in obesity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102(30):10610-5.

153. Kloting N, Berndt J, Kralisch S, Kovacs P, Fasshauer M, Schon MR, et al. Vaspin gene expression in human adipose tissue: association with obesity and type 2 diabetes. *Biochem Biophys Res Commun.* 2006;339(1):430-6.
154. Kloting N, Kovacs P, Kern M, Heiker JT, Fasshauer M, Schon MR, et al. Central vaspin administration acutely reduces food intake and has sustained blood glucose-lowering effects. *Diabetologia.* 2011;54(7):1819-23.
155. Saalbach A, Vester K, Rall K, Tremel J, Anderegg U, Beck-Sickinger AG, et al. Vaspin--a link of obesity and psoriasis? *Exp Dermatol.* 2012;21(4):309-12.
156. Cakal E, Ustun Y, Engin-Ustun Y, Ozkaya M, Kilinc M. Serum vaspin and C-reactive protein levels in women with polycystic ovaries and polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol.* 2011;27(7):491-5.
157. Kameshima S, Sakamoto Y, Okada M, Yamawaki H. Vaspin prevents elevation of blood pressure through inhibition of peripheral vascular remodelling in spontaneously hypertensive rats. *Acta Physiol (Oxf).* 2016;217(2):120-9.
158. 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):1265-76.
159. Aust G, Richter O, Rohm S, Kerner C, Hauss J, Kloting N, et al. Vaspin serum concentrations in patients with carotid stenosis. *Atherosclerosis.* 2009;204(1):262-6.
160. Kadoglou NP, Gkontopoulos A, Kapelouzou A, Fotiadis G, Theofilogiannakos EK, Kottas G, et al. Serum levels of vaspin and visfatin in patients with coronary artery disease-Kozani study. *Clin Chim Acta.* 2011;412(1-2):48-52.
161. Zhang B, Peng W, Wang K, Li H, Xu Y. Vaspin as a Prognostic Marker in Patients with Acute Myocardial Infarction. *Heart Lung Circ.* 2016;25(3):257-64.
162. Lin Y, Zhuang J, Li H, Zhu G, Zhou S, Li W, et al. Vaspin attenuates the progression of atherosclerosis by inhibiting ER stress-induced macrophage apoptosis in apoE^{-/-} mice. *Mol Med Rep.* 2016;13(2):1509-16.
163. Zhang JV, Ren PG, Avsian-Kretchmer O, Luo CW, Rauch R, Klein C, et al. Obestatin, a peptide encoded by the ghrelin gene, opposes ghrelin's effects on food intake. *Science.* 2005;310(5750):996-9.
164. Sjölund K, Ekman R, Wierup N. Covariation of plasma ghrelin and motilin in irritable bowel syndrome. *Peptides.* 2010;31(6):1109-12.
165. Zhang N, Yuan C, Li Z, Li J, Li X, Li C, et al. Meta-analysis of the relationship between obestatin and ghrelin levels and the ghrelin/obestatin ratio with respect to obesity. *Am J Med Sci.* 2011;341(1):48-55.

166. Qi X, Li L, Yang G, Liu J, Li K, Tang Y, et al. Circulating obestatin levels in normal subjects and in patients with impaired glucose regulation and type 2 diabetes mellitus. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2007;66(4):593-7.
167. Nakahara T, Harada T, Yasuhara D, Shimada N, Amitani H, Sakoguchi T, et al. Plasma obestatin concentrations are negatively correlated with body mass index, insulin resistance index, and plasma leptin concentrations in obesity and anorexia nervosa. *Biol Psychiatry*. 2008;64(3):252-5.
168. Anderwald-Stadler M, Krebs M, Promintzer M, Mandl M, Bischof MG, Nowotny P, et al. Plasma obestatin is lower at fasting and not suppressed by insulin in insulin-resistant humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2007;293(5):E1393-8.
169. Wojciechowicz T, Skrzypski M, Kołodziejcki PA, Szczepankiewicz D, Pruszyńska-Oszmałek E, Kaczmarek P, et al. Obestatin stimulates differentiation and regulates lipolysis and leptin secretion in rat preadipocytes. *Mol Med Rep*. 2015;12(6):8169-75.
170. Szentpéteri A, Lőrincz H, Somodi S, Varga VE, Paragh G, Seres I, et al. Serum obestatin level strongly correlates with lipoprotein subfractions in non-diabetic obese patients. *Lipids Health Dis*. 2018;17(1):39.
171. Zerbinati C, Galli F, Regolanti R, Poli G, Iuliano L. Gas chromatography-mass spectrometry microanalysis of alpha- and gamma-tocopherol in plasma and whole blood. *Clin Chim Acta*. 2015;446:156-62.
172. Hoefner DM, Hodel SD, O'Brien JF, Branum EL, Sun D, Meissner I, et al. Development of a rapid, quantitative method for LDL subfractionation with use of the Quantimetrix Lipoprint LDL System. *Clin Chem*. 2001;47(2):266-74.
173. Dihazi H, Koziolok MJ, Söllner T, Kahler E, Klingel R, Neuhoff R, et al. Protein adsorption during LDL-apheresis: proteomic analysis. *Nephrol Dial Transplant*. 2008;23(9):2925-35.
174. Morawietz H, Goettsch W, Brux M, Reimann M, Bornstein SR, Julius U, et al. Lipoprotein apheresis of hypercholesterolemic patients mediates vasoprotective gene expression in human endothelial cells. *Atheroscler Suppl*. 2013;14(1):107-13.
175. Nenseter MS, Narverud I, Græsdal A, Bogsrud MP, Aukrust P, Retterstøl K, et al. Cholesterol efflux mediators in homozygous familial hypercholesterolemia patients on low-density lipoprotein apheresis. *J Clin Lipidol*. 2013;7(2):109-16.
176. Geiss HC, Bremer S, Barrett PH, Otto C, Parhofer KG. In vivo metabolism of LDL subfractions in patients with heterozygous FH on statin therapy: rebound analysis of LDL subfractions after LDL apheresis. *J Lipid Res*. 2004;45(8):1459-67.

177. Schamberger BM, Geiss HC, Ritter MM, Schwandt P, Parhofer KG. Influence of LDL apheresis on LDL subtypes in patients with coronary heart disease and severe hyperlipoproteinemia. *J Lipid Res.* 2000;41(5):727-33.
178. Kattoor AJ, Pothineni NVK, Palagiri D, Mehta JL. Oxidative Stress in Atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep.* 2017;19(11):42.
179. Navab M, Ananthramaiah GM, Reddy ST, Van Lenten BJ, Ansell BJ, Fonarow GC, et al. The oxidation hypothesis of atherogenesis: the role of oxidized phospholipids and HDL. *J Lipid Res.* 2004;45(6):993-1007.
180. Tousoulis D, Psaltopoulou T, Androulakis E, Papageorgiou N, Papaioannou S, Oikonomou E, et al. Oxidative stress and early atherosclerosis: novel antioxidant treatment. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2015;29(1):75-88.
181. Heiser M, Hutter-Paier B, Jerkovic L, Pfragner R, Windisch M, Becker-André M, et al. Vitamin E binding protein afamin protects neuronal cells in vitro. *J Neural Transm Suppl.* 2002(62):337-45.
182. Kollerits B, Lamina C, Huth C, Marques-Vidal P, Kiechl S, Seppälä I, et al. Plasma Concentrations of Afamin Are Associated With Prevalent and Incident Type 2 Diabetes: A Pooled Analysis in More Than 20,000 Individuals. *Diabetes Care.* 2017;40(10):1386-93.
183. Tramontana A, Pablik E, Stangl G, Hartmann B, Dieplinger H, Hafner E. Combination of first trimester serum afamin levels and three-dimensional placental bed vascularization as a possible screening method to detect women at-risk for adverse pregnancy complications like pre-eclampsia and gestational diabetes mellitus in low-risk pregnancies. *Placenta.* 2018;62:9-15.
184. Mihara E, Hirai H, Yamamoto H, Tamura-Kawakami K, Matano M, Kikuchi A, et al. Active and water-soluble form of lipidated Wnt protein is maintained by a serum glycoprotein afamin/ α -albumin. *Elife.* 2016;5.
185. Yerges-Armstrong LM, Shen H, Ryan KA, Streeten EA, Shuldiner AR, Mitchell BD. Decreased bone mineral density in subjects carrying familial defective apolipoprotein B-100. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98(12):E1999-2005.
186. Maes M, Weeckx S, Wauters A, Neels H, Scharpé S, Verkerk R, et al. Biological variability in serum vitamin E concentrations: relation to serum lipids. *Clin Chem.* 1996;42(11):1824-31.
187. Nourooz-Zadeh J, Smith CC, Betteridge DJ. Measures of oxidative stress in heterozygous familial hypercholesterolaemia. *Atherosclerosis.* 2001;156(2):435-41.

188. Kopprasch S, Bornstein SR, Schwarz PE, Bergmann S, Julius U, Graessler J. Single whole blood dextran sulfate adsorption favorably affects systemic oxidative balance in lipoprotein apheresis patients. *Atheroscler Suppl.* 2013;14(1):157-60.
189. Kopprasch S, Bornstein SR, Bergmann S, Graessler J, Julius U. Long-term therapeutic efficacy of lipoprotein apheresis on circulating oxidative stress parameters--A comparison of two different apheresis techniques. *Atheroscler Suppl.* 2015;18:80-4.
190. Stefanutti C, Di Giacomo S, Vivenzio A, Isacchi GC, Masella R, Caprari P, et al. Acute and long-term effects of low-density lipoprotein (LDL)-apheresis on oxidative damage to LDL and reducing capacity of erythrocytes in patients with severe familial hypercholesterolaemia. *Clin Sci (Lond).* 2001;100(2):191-8.
191. Orsoni A, Saheb S, Levels JH, Dallinga-Thie G, Atassi M, Bittar R, et al. LDL-apheresis depletes apoE-HDL and pre- β 1-HDL in familial hypercholesterolemia: relevance to atheroprotection. *J Lipid Res.* 2011;52(12):2304-13.
192. Violi F, Cangemi R. Statin treatment as a confounding factor in human trials with vitamin E. *J Nutr.* 2008;138(6):1179-81.
193. Mechanick JI, Zhao S, Garvey WT. The Adipokine-Cardiovascular-Lifestyle Network: Translation to Clinical Practice. *J Am Coll Cardiol.* 2016;68(16):1785-803.
194. Kroon AA, Aengevaeren WR, van der Werf T, Uijen GJ, Reiber JH, Brusckhe AV, et al. LDL-Apheresis Atherosclerosis Regression Study (LAARS). Effect of aggressive versus conventional lipid lowering treatment on coronary atherosclerosis. *Circulation.* 1996;93(10):1826-35.
195. Koga N, Watanabe K, Kurashige Y, Sato T, Hiroki T. Long-term effects of LDL apheresis on carotid arterial atherosclerosis in familial hypercholesterolaemic patients. *J Intern Med.* 1999;246(1):35-43.
196. Moriarty PM, Parhofer KG, Babirak SP, Cornier MA, Duell PB, Hohenstein B, et al. Alirocumab in patients with heterozygous familial hypercholesterolaemia undergoing lipoprotein apheresis: the ODYSSEY ESCAPE trial. *Eur Heart J.* 2016;37(48):3588-95.
197. Sabatine MS, Giugliano RP, Keech AC, Honarpour N, Wiviott SD, Murphy SA, et al. Evolocumab and Clinical Outcomes in Patients with Cardiovascular Disease. *N Engl J Med.* 2017;376(18):1713-22.
198. Schwartz GG, Steg PG, Szarek M, Bhatt DL, Bittner VA, Diaz R, et al. Alirocumab and Cardiovascular Outcomes after Acute Coronary Syndrome. *N Engl J Med.* 2018;379(22):2097-107.

199. Blaha M, Lanska M, Blaha V, Boudys L, Zak P. Pregnancy in homozygous familial hypercholesterolemia--Importance of LDL-apheresis. *Atheroscler Suppl.* 2015;18:134-9.
200. Bambauer R, Bambauer C, Lehmann B, Latza R, Schiel R. LDL-apheresis: technical and clinical aspects. *ScientificWorldJournal.* 2012;2012:314283.

11. Tárgyszavak

Tárgyszavak: familiáris hypercholesterinaemia, szelektív LDL aferezis kezelés, chemerin, hormonhatású peptidek, afamin, E vitamin, LDL és HDL szubfrakciók

Keywords: familial hypercholesterolemia, selective LDL apheresis, chemerin, hormon-like peptides, afamin, vitamin E, LDL and HDL subfractions

12. Köszönetnyilvánítás

Köszönöm Prof. Dr. Paragh Györgynek, a DE KK Belgyógyászati Intézet Anyagcsere Betegségek Tanszék vezetőjének, hogy lehetővé tette a Tanszéken folyó tudományos munkában való részvételemet.

Köszönöm Prof. Dr. Balla Józsefnek és Prof. Dr. Soltész Pálnak, hogy az Extrakorporális Szervpótló Centrumban zajló szelektív LDL aferezis kezelésekkkel kapcsolatos kutatásaimat engedélyezték és támogatták.

Köszönetemet szeretném kifejezni témavezetőmnek, Dr. Harangi Mariann egyetemi docensnek, aki támogatotta és irányította laboratóriumi és tudományos munkámat, mindig segítségemre volt a kísérletek megtervezésében és a felmerülő kérdések megvitatásában. Témavezetőm bátorítása és támogatása nélkül nem valósulhatott volna meg számomra egy hosszabb külföldi szakmai gyakorlat teljesítése sem.

Köszönet illeti Dr. Seres Ildikó tudományos főmunkatársat, hogy lehetőséget biztosított a doktori értekezésemhez szükséges laboratóriumi munka elvégzéséhez, a laboratóriumi munka és a doktori disszertáció megírása során értékes tanácsokkal segítette munkámat.

Köszönetemet szeretném kifejezni Dr. Katkó Mónikának, Dr. Lőrincz Hajnalkának és Dr. Szentpéteri Anitának a laboratóriumi munkámban, Németh Csillának és Kenézné Papp Veronikának az aferezis kezeléseik és mintavételek során nyújtott segítségéért.

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

Vizsgálatainkat a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alap (OTKA 115723) támogatta. 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. Saját közlemények listája



**DEBRECENI
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**

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

Nyilvántartási szám: DEENK/324/2019.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Varga Viktória Evelin
Neptun kód: O750P3
Doktori Iskola: Egészségtudományok Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Varga, V. E.**, Lőrincz, H., Szentpéteri, A., Juhász, L., Seres, I., Paragh, G. J., Balla, J., Paragh, G., Harangi, M.: Changes in serum afamin and vitamin E levels after selective LDL apheresis. *J. Clin. Apheresis.* 33 (5), 569-575, 2018.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/jca.21636>
IF: 3.088
2. **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/10.1186/s12944-016-0353-x>
IF: 2.073

További közlemények

3. Szentpéteri, A., Lőrincz, H., Somodi, S., **Varga, V. E.**, Paragh, G. J., Seres, I., Paragh, G., Harangi, M.: Serum obestatin level strongly correlates with lipoprotein subfractions in non-diabetic obese patients. *Lipids Health Dis.* 17 (1), 1-27, 2018.
DOI: <https://doi.org/10.1186/s12944-018-0691-y>
IF: 2.651
4. Zádori, D., Szpisjak, L., Madar, L., **Varga, V. E.**, Csányi, B., Bencsik, K., Balogh, I., Harangi, M., Kereszty, É., Vécsei, L., Klivényi, P.: Different phenotypes in identical twins with cerebrotendinous xanthomatosis: case series. *Neurol. Sci.* 38 (3), 481-483, 2017.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10072-016-2776-6>
IF: 2.285





5. Szentpéteri, A., Zsíros, N., **Varga, V. E.**, Lőrincz, H., Katkó, M., Seres, I., Fülöp, P., Paragh, G., Harangi, M.: Paraoxonase-1 and myeloperoxidase correlate with vascular biomarkers in overweight patients with newly diagnosed untreated hyperlipidaemia.
VASA-J. Vasc. Dis. 46 (5), 370-376, 2017.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1024/0301-1526/a000643>
IF: 1.21
6. Szilasi, M. E., Pák, K., Kardos, L., **Varga, V. E.**, Seres, I., Mikáczó, A., Fodor, A., Szilasi, M., Tajti, G., Papp, C., Gesztelyi, R., Zsuga, J.: The alteration of irisin - brain-derived neurotrophic factor axis parallels severity of distress disorder in bronchial asthma patients.
Front. Neurosci. 11, 1-12, 2017.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fnins.2017.00653>
IF: 3.877
7. 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: 2.434
8. **Varga, V. E.**, Katkó, M., Harangi, J., Balogh, I., Kapás, I., Madar, L., Seres, I., Molnár, M. J., Paragh, G., Kovács, G. G., Harangi, M.: Egy ritka, veleszületett neurodegeneratív betegség: a cerebrotendinosus xanthomatosis laboratóriumi diagnosztikája.
Orv. Hetil. 155 (21), 811-816, 2014.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/OH.2014.29887>

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 17,618

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapján szolgáló közleményekre):
5,161**

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, 2019.09.24.



13. Fűggelék