

EGYETEMI DOKTORI (PH.D.) ÉRTEKEZÉS

Dr. Varga Éva

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



Debreceni Egyetem

Egészségtudományok Doktori Iskola

Debrecen, 2012

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

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

Írta: Dr. Varga Éva okleveles általános orvos

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

Témavezető: Prof. Dr. Paragh György

A doktori szigorlati bizottság:

elnök: Dr.
tagok: Dr.
Dr.

A doktori szigorlat időpontja: 201...

Az értekezés bírálói:

Dr.
Dr.
Dr.

A bírálóbizottság:

elnök: Dr.
tagok: Dr.
Dr.
Dr.
Dr.

Az értekezés védésének időpontja: 201...

Tartalom

Bevezetés.....	4
Irodalmi áttekintés.....	5
Az érlelmeszesedés.....	5
A krónikus veseelégtelenség és a kardiovaszkuláris rizikó	7
A krónikus veseelégtelenség és a HDL.....	10
A krónikus veseelégtelenség és a paraoxonáz aktivitás	13
A krónikus veseelégtelenség és a cisztatin C	17
A krónikus veseelégtelenség és a homocisztein.....	18
Célkitűzés.....	20
Betegek és módszerek	23
Betegek.....	23
Vérvétel	25
Lipidparaméterek	26
Paraoxonáz-aktivitás	26
Arlélszteráz-aktivitás.....	27
Fenotípus-megoszlás	27
Genotípus-megoszlás	27
Tiobarbitursavval reagáló anyagok	28
Oxidált LDL	28
Homocisztein és cisztatin C	29
Statisztikai módszerek.....	29
Eredmények.....	31
A humán paraoxonáz-1 gén fenotípusa és genotípusa az átlagpopulációban és krónikus veseelégtelenségben	31
Az alacsony HDL és a humán paraoxonáz-1 veseelégtelenségben és primer dyslipidaemiában.....	35
A cisztatin C, a homocisztein és a humán paraoxonáz-1 veseelégtelenségben.....	41
Megbeszélés	44
A humán paraoxonáz-1 gén fenotípusa és genotípusa az átlagpopulációban és krónikus veseelégtelenségben	44
Az alacsony HDL és a humán paraoxonáz-1 veseelégtelenségben és primer dyslipidaemiában.....	47
A cisztatin C, a homocisztein és a humán paraoxonáz-1 veseelégtelenségben.....	51
Összefoglalás.....	55
Irodalomjegyzék.....	56
Függelék	82

Bevezetés

A krónikus veseelégtelenségben (KVE-ben) szenvedő betegek életkilátásait ma már általában nem az alapbetegség, hanem döntően a szív- és érrendszeri szövődmények határozzák meg, melynek hátterében a korai érrelmeszesedés áll. A KVE a fejlett országokban népbetegség, hazánkban is kb. 500 000 beteg érintett. Ezen felül a KVE egyre növekvő problémát jelent a veseelégtelenséghez vezető alapbetegségek, mint például a cukorbetegség és a magas vérnyomás növekvő incidenciája miatt. A vesepótló kezelésre szoruló betegek száma világviszonylatban egyre magasabb, a fejlett országokban 1 000 000 lakosra gyakran 500-1000 krónikus dialízisprogramban részt vevő beteg jut [1].

A hemodialízis-programban részt vevő és a vesetranszplantált betegek kardiovaszkuláris morbiditása és mortalitása szignifikánsan magasabb az átlagpopulációénál. Az ateroszklerózis alapján kialakult szívbetegséget a dializált betegek halálozásának 55%-áért tartják felelősnek. Emiatt kiemelkedően fontos a módosítható kardiovaszkuláris rizikófaktorok és a védőmechanizmusok azonosítása és időben megkezdett kezelése, hogy csökkenthessük a vesebetegek halálozását, lassíthassuk a szövődmények kialakulását és javíthassuk életminőségüket.

Korábbi vizsgálataink során felvetődött, hogy a veseelégtelenség miatt létrejövő és az alapbetegség szövődményeként kialakuló anyagcsere-változások következtében ezekben a betegekben eltérő lehet az ateroszklerózis patomechanizmusa.

A gyógyszerek farmakokinetikájának és –dinámiájának megváltozása, valamint a kölcsönhatások gyakoribb előfordulása következtében krónikus veseelégtelenségben és vesetranszplantáltakban eltérő lehet a kezelés hatékonysága. Ez a primer dyslipidaemiában szenvedőkhöz képest módosított terápiás megközelítést indokolhat.

Felvetődött továbbá, hogy a konvencionális kardiovaszkuláris rizikófaktorok és markerek a megváltozott metabolikus környezetben nem olyan jó előrejelzői a szív- és érrendszeri

morbiditásnak, így olyan markereket kerestünk, melyek időben jelezhetik az érrelmeszesedés kialakulását, és amelyekkel megfelelőképpen jellemezhetnénk a krónikus veseelégtelenségben szenvedő betegek kardiovaszkuláris rizikóstatuszát.

Irodalmi áttekintés

Az érrelmeszesedés

Az érrelmeszesedés következtében kialakuló akut miokardiális infarktus (AMI), perifériás érbetegség és stroke a fejlett országokban a morbiditás és mortalitás legfontosabb okai között szerepelnek, és a WHO (Egészségügyi Világszervezet) becslése szerint 2020-ban az érrelmeszesedés lesz a vezető halálok. Az ateroszklerózis talaján kialakuló betegségek szubklinikai prevalenciája igen magas, így tünetmentes, 20-29 éves szívtranszplantáció-donorok 40%-ában, a 30-39 éveseknek pedig 60%-ában észleltek ateroszklerotikus koronária-elváltozásokat [2]. A nagy és közepes méretű artériákban már az élet első éveiben megkezdődik az intimaplakkok képződése [3].

Az ateroszklerózis kialakulásában számos rizikófaktor játszik szerepet, melyek elősegítik az érfal permeabilitásának fokozódását, lipidek lerakódását és oxidációját, a gyulladásos folyamatokat és az érfal átépülését. A korábbi nagy epidemiológiai vizsgálatok és multicentrikus tanulmányok igazolták a dyslipidaemia, különösen az emelkedett kis sűrűségű lipoprotein-koleszterin (LDL-C), a magas vérnyomás, a dohányzás, a cukorbetegség és az obesitás proaterogén hatását [4]. Ezen úgynevezett major rizikófaktorokon kívül felvetődött a stressz, a fizikai aktivitás hiánya, a hiperhomociszteinémia, valamint egyéb genetikai faktorok szerepe is.

Ezen kívül fokozzák az érrelmeszesedést a lipidprofil LDL-en kívüli változásai, elsősorban a hipertrigliceridémia, a nagy sűrűségű lipoprotein-koleszterin (HDL-C) alacsony szintje, valamint az LDL- és HDL-részecskék minőségi változásai [5-7]. Az utóbbin belül jelentős a

kicsi, sűrű LDL (sdLDL), valamint a HDL-szubpopulációk arányának megváltozása és a HDL-en található antioxidáns enzimek csökkent aktivitása [8-9].

Az aterogén tényezők következménye az LDL érfalba jutása és felhalmozódása, majd reaktív gyökök és enzimatis folyamatok hatására az LDL-részecskék oxidációja következik be [4]. Ezután az oxidált LDL-ben (oxLDL-ben) képződött reaktív aldehidek, peroxidok és foszfolipidek az endothelsejteken adhézións molekulák (ICAM-ok: sejtközötti sejtadhézións molekulák és VCAM-ok: vaszkuláris sejtadhézións molekulák) fokozott megjelenéséhez vezetnek, ez pedig monocitákat és T-sejteket toboroz az érintett intimába [10]. Az idevándorolt monociták makrofágokká differenciálódnak, és fokozódik a sejtfelszíni scavenger-receptorok (scavenger: „tisztító”) mennyisége, amelyek az oxLDL és a súlyosan károsodott sejtek felvételét és eliminációját segítik elő. A makrofágok lipidekkel telt habos sejtekké alakulnak, és citokineket bocsátanak ki. A plakk progressziója során az apoptotizált habos sejtekből extracelluláris lipid-depozitumok képződnek, amelyek fokozzák a gyulladásos sejtek és a fibroblasztok aktivitását [11].

Ha az oxLDL akkumulációja folyamatos, a gyulladásos folyamat krónikussá válik, és aktiválja a simaizomsejtek médiából intimába vándorlását és proliferációját. Így az intimában fibromuszkuláris plakk képződik, amely az ér lumenének szűkítésével akadályozhatja a vér áramlását [12].

A vizsgálatok azt mutatják, hogy a plakk nagyságán kívül annak instabilitása is döntő a kardiovaszkuláris események kialakulásában [13]. A gyakoribb, döntően kötőszövetes plakkok relatíve stabilak, és ritkán okoznak akut klinikai tüneteket. Az akut miokardiális infarktust és a stroke-ot olyan sérülékeny plakkok rupturája okozza, amelyek nagyrészt lipidek alkotta gyulladásos-nekrotikus magból és elvékonyodott, fibrotikus sapkából állnak. A nekrotikus magból és a monocitákból származó szöveti faktor a ruptura helyén trombusképződést vált ki, és elősegíti annak növekedését. A leukociták és a vérlemezkék a

sejtfelszíni CD15 és P-szelektin segítségével kerülnek kapcsolatba, ez elősegíti aktiválódásukat. A ruptura helyén vérlemezkében gazdag fehér trombus, míg attól proximálisan és disztálisan vörösvérsejtben és fibrinben gazdag vörös trombus alakul ki [12].

Még nem teljesen tisztázott, mely faktorok határozzák meg, hogy stabil, fibrotikus vagy sérülékeny, nekrotikus plakk fejlődik-e ki, de úgy tűnik, hogy a lipid-akkumuláció és -oxidáció sebességének, a lokális hemodinamikai faktoroknak és esetleg bizonyos mikroorganizmusok lokális inváziójának szerepe van a folyamatban. Az összefolyó lipidmag hatására enzimek és citokinek gyűlnek a plakkba, például interferon- γ és mátrix metalloproteinázok, melyek hozzájárulnak a kötőszövetes sapka elvékonyodásához, és fokozzák annak instabilitását [14]. Az instabil plakk fontos jellemzője, hogy a sejthalál és az extracelluláris szövet gyulladásos degradációja olyan ütemben zajlik, hogy az intimában levő simaizomsejtek helyreállító folyamatai nem elégségesek a szövet folytonosságának helyreállítására [15].

Az előbbiek azt bizonyítják, hogy multifaktoriális betegségről van szó, amelynek pathomechanizmusában sejtes elemek (endothel, monociták, T-sejtek, simaizomsejtek) és vérlemezkék egyaránt részt vesznek, és fontos szerep jut az általuk kibocsátott citokineknek, amelyek a terápia potenciális célpontjai lehetnek. Kiemelendő az oxidatív stressz, a sejtek emelkedett intracelluláris Ca^{2+} -szintje, az inflammáció és a sejtproliferáció is [4,16], és a folyamatban kulcsszerepet kap a plakkban felhalmozódó oxidált LDL, valamint az antioxidáns HDL csökkenése.

A krónikus veseelégtelenség és a kardiovaszkuláris rizikó

Életkortól függetlenül a krónikus veseelégtelenségben szenvedő betegek egyik legsúlyosabb megbetegedése és a magas halálozás vezető oka a ischaemiás szívbetegség (ISZB). A krónikus művesekezelésben részesülő (dializált) betegek kardiovaszkuláris halálozása messze meghaladja az egészséges populációét [1]. Vesebetegekben az ischaemiás szívbetegség

rizikója 20-szoros, a stroke-é 10-szeres az egészségesekéhez képest [17]. Már a dialíziskezelés megkezdése előtt a betegek jelentős hányadában találhatunk szívultrahanggal kimutatható strukturális és funkcionális rendellenességet (pl. a bal kamra tömegének megnövekedését, diasztolés funkciózavart) [18], valamint gyakran észlelünk krónikus szívizomkárosodásra utaló markereket (pl. B-típusú nátriuretikus peptid: BNP emelkedését). Úgy tűnik tehát, hogy a már fennálló és a dialízisprogramban töltött időszak alatt progrediáló szívbetegség egyaránt hozzájárul a megnövekedett kardiovaszkuláris halálozáshoz.

A fokozott kardiovaszkuláris halálozást a vesebetegek számos rizikófaktorja magyarázza. Gyakoribb a magas vérnyomás, a diabetes mellitus, a centrális elhízás, a dyslipidaemia, a hiperhomociszteinémia, valamint megváltozik a leptintermelés. Ezek a tradicionális rizikófaktorok egyébként megtartott vesefunkciójú érbetegekben is jelen lehetnek.

Vesebetegségre specifikusak az alacsony szérum kalcium és a magas foszfát, a hypoalbuminémia, a koaguláció zavarai, az alapbetegség miatt fokozott szisztémás gyulladás és megnövekedett oxidatív stressz, amelyeket a nem tradicionális rizikófaktorok közé sorolják [19].

A fenti rizikófaktorok közül az egyik legjelentősebb a szekunder dyslipidaemia [20]. Krónikus veseelégtelenségben igen gyakran találkozunk a lipoproteinek, illetve azok lipid- és (apolipo)protein komponenseinek mennyiségi és minőségi változásával, köztük a szintézis, a metabolizmus és a transzportfolyamatok károsodásával [21-22]. Egy tanulmány szerint a krónikus veseelégtelenségben szenvedő betegek kb. harmada hipertrigliceridémiás, és szintén harmadában kóros az összkoleszterinszint [23].

A korábbi vizsgálatok eredményei hiányosak és gyakran ellentmondásosak annak tekintetében, hogy krónikus veseelégtelenségben szenvedő és vesetranszplantált betegekben mekkora az egyes rizikófaktorok jelentősége, és hogy a célértékek megegyezzenek-e az átlagpopulációéval. A legújabb nemzetközi, és az ezeken alapuló magyar ajánlások alapján

idült veseelégtelenségben ugyanazon lipidcélértékek elérése szükséges, mint más nagy kockázatú állapotokban, és amennyiben kardiovaszkuláris betegség alakul ki, más állapothoz hasonlóan a 3,5 mmol/l alatti összkoleszterin és az 1,8 mmol/l alatti LDL-C érték elérése javasolt. Az elmúlt években lezárult nagy vizsgálatok igazolták, hogy a statinkezelés jelentősen beszűkült vesefunkció esetén, akár végstádiumú veseelégtelenségben is biztonságos [24-25].

Bár a vesebetegek jelentős hányadában találkozunk egy vagy több lipidkomponens kóros plazmakoncentrációjával, ennek ellenére nem mindegyikük részesül lipidcsökkentő terápiában, illetve sokuk kezelése nem megfelelő [17].

A hemodializált betegekben gyakran normális összkoleszterin-, LDL- és apolipoprotein B- (ApoB-)szinteket találunk [26], de megemelkedik a kicsi, sűrű LDL-részecskék aránya, vagyis az aterogén LDL-6 szubfrakció, különösen diabéteszes vesebetegek esetén. A veseelégtelenségben gyakori magas trigliceridszint (TG) valószínűleg inkább a nagyon kis sűrűségű lipoprotein-részecskék (VLDL) fokozott TG-tartalmának, semmint számuk növekedésének tulajdonítható [27], továbbá a VLDL-maradékok és a közepes sűrűségű lipoprotein (IDL) emelkedésének.

Összefoglalásként tehát azt mondhatjuk, hogy a krónikus vesebetegekben a trigliceridgazdag ApoB-tartalmú lipoprotein részecskék száma nő. Emellett megemelkedik az oxLDL és a lipoprotein(a) (Lp(a)) koncentrációja. Egyre több bizonyítékunk van arra, hogy az aterogén dyslipidaemia egyes komponensei önmagukban is aterogének. Zavart szenved a különböző lipoprotein-részecskék közötti, valamint a sejtektől a katabolizmus helye felé irányuló koleszterintranszport dinamikája is.

Az európai és észak-amerikai szakértők (European Joint Task Force, US National Cholesterol Education Program expert panel) irányelveket adtak ki a primer hiper- és dyslipidaemiás betegek kardiovaszkuláris rizikójának csökkentésére. Egyetértettek abban, hogy ezeket az

elveket a veseelégtelenségben szenvedő betegekre is alkalmazni kellene, azonban esetükben eltérő lehet az érelmeszesedés mechanizmusa, és a lipidcsökkentő gyógyszerek valódi haszna sem kellően bizonyított. Nagy, prospektív, randomizált tanulmányok indultak (pl. 4D-trial, SHARP) a sztatinok és egyéb gyógyszerek kardiovaszkuláris komplikációkat mérséklő hatásának megítélésére diabéteszes és nem-cukorbeteg vesebetegekben, melyek biztató kezdeti eredményekről számoltak be az LDL- és TG-csökkentés, valamint a toxicitás tekintetében, de még hiányosak és ellentmondásosak az adatok a kardiovaszkuláris morbiditás és mortalitás terén, és nem foglalkoznak kellő részletességgel az egyéb lipidkomponensekkel [28-30].

A krónikus veseelégtelenség és a HDL

Az LDL-C oxidatív módosulása tehát az ateroszklerotikus folyamat egyik kulcslépése [1]. Korábbi vizsgálatok kimutatták, hogy az LDL-C vesebetegekben nem olyan jó előrejelzője a szív- és érrendszeri morbiditásnak és mortalitásnak, mint normál veseműködés esetén, a HDL-C viszont ebben a betegcsoportban is szignifikáns kardiovaszkuláris rizikófaktor marad [23].

A HDL antiaterogén szerepét többek között a reverz koleszterintranszportban betöltött szerepének köszönheti [31-35]. Az extrahepatikus szövetekben felhalmozódó koleszterin a reverz koleszterintranszport eredményeként a májba jut, ahol kiválasztásra kerül [36]. A koleszterinmolekulák spontán, passzív módon diffundálhatnak a sejtmembránból az intersticiális folyadékban található, foszfolipideket, triglicerideket és fehérjéket tartalmazó felvevő részecskékbe [37]. A HDL-molekula azonban specifikusan is képes kötődni az apolipoprotein A1 (ApoA1) segítségével a sejtfelszínen található kötőhelyekhez [38]. Ez a kötődés egy intracelluláris jelátviteli folyamatot indít el, amelynek következménye a sejtben tárolt koleszterinészterek hidrolízise és szekréciója [39].

A szervezetben található fiziológiás akceptor a diszkoid HDL, amely foszfolipidekből és fehérjékből (apolipoproteinekből (pl. ApoA1, ApoA4, ApoE, ApoJ), és egyéb, nem struktúrális fehérjékből) épül fel. A HDL-t a máj és a vékonybél termeli. A koleszterint a lecitin-koleszterol aciltranszferáz (LCAT) enzim észterifikálja, mely ezután a HDL-részecske magjába kerül [40].

A HDL-partikulák eltávolítása többféle mechanizmussal történik a plazmából: a koleszterinészter-transzferprotein (CETP) a koleszterinészter egy részét alacsonyabb sűrűségű lipoproteinekbe szállítja trigliceridekért cserébe [41], más részét nem endocitotikus módon a máj veszi fel, és itt kisebb méretű és koleszterinészter-tartalmú HDL részecskék keletkeznek [42].

A HDL antiaterogén hatása nem kizárólag a reverz koleszterintranszportban betöltött szerepére korlátozódik. A HDL-részecskében található koleszterinészter-transzferprotein, a lecitin-koleszterol aciltranszferáz és trombocitaaktiváló faktor acetilhidroláz (PAFAH) szintén rendelkeznek antioxidáns hatással, de közülük legjelentősebb a humán paraoxonáz-1 (PON1) [43-46].

A HDL az endotheliális prosztaciklin-szintézis fokozása és a plazmában a prosztaciklin-féléletidő nyújtása révén az artériafal endothelsetjeire és a monocitákra gyulladásgátló hatást fejt ki [47-48]. Az LDL-ből származó lizolecitin és az oxidált koleszterinszármazékok megkötése révén a HDL stimulálja az endotel nitrogénmonoxid- (NO-)szintézisét, ezáltal az endoteliális vazorelaxációt és a sejtgyógyulást. A HDL az endoteliális nitrogén-monoxid szintáz (eNOS) foszforilálásán keresztül fokozza az enzim aktivitását, és megakadályozza a hiperkoleszterinémia okozta eNOS-gátlást. Az egészségesekből nyert, rekonstruált HDL helyreállítja a károsodott endotel-dependens, NO-mediált vazodilatációt, amely kulcsszerepet játszik az érlemezsedés kialakulásában. Koszorúérbetegekben azonban a HDL endotelvédő hatásának csökkenését, sőt egyes esetekben eNOS-gátló hatását mutatták ki [49-50]. A HDL

gátolja a sejtheadhéziós molekulák (pl. a VCAM) megjelenését [51-52], valamint a tromboxán- és prosztaciklin-termelés szabályozásán keresztül a thrombocyta-aggregáció gátlására és a fibrinolízis fokozására is képes [52-55]. A HDL az endotoxinok megkötésével védelmet nyújt azok proinflammatorikus hatásával szemben.

Az alacsony plazma HDL-koncentrációt többféle tényező okozhatja. A megtartott CETP aktivitás csökkent HDL-C-hez vezet, de nem nagyobb az ateroszklerózis rizikója [56-58], míg fokozott ateroszklerotikus rizikóval és alacsony HDL-lel jár az ApoA1-hiány [59], vagy az LCAT csökkent aktivitása következtében létrejövő alacsony HDL-C [60].

Magas HDL-C-t okoz a CETP csökkent aktivitása, amely a HDL-molekulák méretbeli növekedését és csökkent katabolizmusát eredményezi [61], így a reverz koleszterintranszport károsodása miatt ezekben a betegekben az emelkedett HDL-C ellenére magas az ischaemiás szívbetegség előfordulása [62]. A LCAT fokozott aktivitása viszont a HDL-C emelésével gátolja az ISZB kialakulását [63].

A HDL plazmaszintjét számos faktor befolyásolja: az életkor (a nőkben a menopauza után kis csökkenés, a férfiakban viszont az életkorral növekedés figyelhető meg, [34]). Ezen kívül a HDL szinttel összefügg a nem, a fizikai aktivitás [64], az orális fogamzásgátlók [34], a triglicerid-fogyasztás, az alkohol, a dohányzás, valamint a testtömegindex (BMI). A HDL-szint csökken familiáris kombinált hiperlipidaemiában, familiáris dyslipidaemiában, familiáris hipoalfalipoproteinaemiában és Tangier-betegségben [65].

Veseelégtelenségben a HDL érése zavart szenved. Az LCAT csökkent és a CETP növekvő aktivitása miatt felgyorsul a HDL eltávolítása a keringésből. A fennmaradó HDL-C elsősorban a koleszterinészterben szegény, a hepatikus lipáz (HL) csökkent aktivitása miatt trigliceridben gazdag HDL3-szubfrakcióban található, mely csökkent antioxidáns kapacitással rendelkezik [66-68]. A dializált betegekből nyert HDL működése ellentmondásos, in vitro kísérletekben az LDL-oxidációt gátló aktivitása megtartott, de károsodott is lehet [69-70].

Korábbi adatok szerint a veseátültetett betegek több mint felének HDL-C szintje alacsony, és ezekben a betegekben a transzplantációt követően gyakoribbá válnak a kardiovaszkuláris szövődmények. A dializált betegek HDL-státusza a koszorúér-betegségek független rizikófaktor, és a hemodialízis-programban részt vevő betegek kb. harmadában alacsony HDL-C-t találtak [23,71-72].

A krónikus veseelégtelenség és a paraoxonáz aktivitás

A szérum paraoxonáz-aktivitásának döntő többségéért a humán szérum paraoxonáz-1 felelős.

A PON1-gyel ellentétben a paraoxonáz géncsalád másik két tagja, a humán paraoxonáz-2 és -3 (PON2 és PON3) csak kis mennyiségben, vagy egyáltalán nem mutatható ki a HDL-ben. A PON2 és PON3 feltehetően az intracelluláris antioxidáns aktivitásért felelős, ily módon fejtenek ki antiateroszklerotikus hatást [73].

A PON1 egy kalciumdependens észteráz, amely többek között aromás karboxil-észterek, organofoszfátok és ideggázok hidrolízisét katalizálja [8,74-75]. A PON1 gén a 7. kromoszómán helyezkedik el. Az enzimfehérje döntő többsége (kb. 99%-a) HDL-hez kötött, melynek szubfrakciói is befolyásolják az enzim szintjét: a HDL3-szubfrakcióban nagyobb a koncentrációja, mint a HDL2-ben [76-77]. A PON1 az ApoA1-hez és kisebb mennyiségben az apolipoprotein J-hez (ApoJ-hez) kötődik [74,76].

A csökkent PON1 aktivitás, vagyis az enzim alacsony antioxidáns kapacitása elősegíti a korai érrelmeszesedést [78]. A PON1 a lipoproteinben található lipidperoxidok hidrolízise révén gátolja az LDL-oxidációt, így az oxidált LDL aterogén és proinflammatorikus aktivitásának gátlása révén hozzájárul a HDL érrelmeszesedést gátló hatásához [43,79-80].

Újabb vizsgálatok kimutatták, hogy a PON1 laktonáz aktivitással is rendelkezik [81], így képes számos lakton, tiolakton és ciklikus karbonát-észter hidrolízisére. A homocisztein tiolakton hidrolízisével gátolja a fehérjék homociszteinilációját, így az ateroszklerózis kialakulását [82]. Az enzim antiaterogén hatásában valószínűleg nem a mesterséges paraoxon

(paraoxonáz-aktivitás, PON) vagy fenilacetát (arilészteráz-aktivitás, Aryl) szubsztrátokon, sokkal inkább a szervezetben található oxidált lipideken és laktonokon kifejtett aktivitása a döntő [83]. Kimutatták azt, hogy a PON aktivitás az antioxidáns hatással, az enzimfehérje mennyisége pedig az arilészteráz aktivitással korrelál.

A PON aktivitását több genetikai és környezeti tényező befolyásolja. Korábbi vizsgálatok összefüggést találtak az elfogyasztott C- és E-vitamin, valamint a PON1-aktivitás között [84]. Egy másik tanulmányban a zöldségek fogyasztása kedvezőtlen hatással volt az enzim aktivitására [85]. A flavonoidok csökkentik a PON1 enzimfehérje Cu^{2+} -indukált oxidatív károsítását [86]. Negatív hatással van a PON1 aktivitásra a magas szérum összkoleszterin [87], az inzulinrezisztencia [88], az akut és krónikus gyulladásos állapot (fertőzések, szisztémás autoimmun kórképek) [89] és az aterogén diéta [90-91]. Ezzel szemben egyes vitaminok [84], az egyszerűen telítetlen zsírsavak fogyasztása, a mérsékelt alkoholfogyasztás, továbbá a borban, teában, gyümölcsleiben jelenlevő polifenolok kedvező hatásúaknak bizonyultak [86,92-93]. Csökkenti a PON1 aktivitást a nagy mennyiségű alkoholfogyasztás, a dohányzás [94], az organofoszfát-expozíció (növényvédőszer, harci gázok) [95], egyes krónikus környezeti ártalmak, illetve a rossz szociális helyzet [96-97]. Idős korban és a menopausa után csökken a PON1 aktivitása [98], bár az enzim koncentrációja változatlan marad. Terhesség és szoptatás alatt a hormonális változások következtében megváltozik a lipidanyagcsere, így a HDL-hez kötött enzimek aktivitása is [99-100]. A magas BMI-vel rendelkező betegekben szintén csökken a PON1 aktivitása [96]. Érdekes, hogy Európán kívüli populációkban magasabb enzimaktivitást találtak [8], amelyben a genotípus mellett szerepe lehet a táplálkozásnak és az eltérő mértékű iparosodásnak is. A proinflammatorikus citokinek, mint a TGF- β (transzformáló növekedési faktor- β) és a TNF- α (tumornekrózis-faktor- α) csökkentik, az IL-6 (interleukin-6) növeli a PON1-aktivitást [101-103].

A PON1 aktivitását egyes lipidcsökkentő gyógyszerek is befolyásolják [104-105] Egy humán hepatocitákon végzett tanulmány szerint a fenofibrát szignifikánsan növelte, míg többféle sztatin csökkentette a PON1-mRNS- (messenger ribonukleinsav-)szintet [106], míg mások a simvasztatin pozitív hatásra utalnak [107].

A PON1 csökkent arilészteráz és paraoxonáz aktivitása több, fokozott érlemeszesedéssel és koronária-rizikóval járó állapotra jellemző, köztük a diabetes mellitusra, a primer dyslipidaemiára és a dohányzásra, melyben a megváltozott lipoprotein-metabolizmus és a megnövekedett oxidatív stressz is szerepet játszik [108-117]. Ezen kívül a PON1 aktivitása alacsonyabb a miokardiális infarktuson átesett betegekben, mint kontroll egyénekben [118]. A magas HDL-szintű, de alacsony PON1 aktivitású betegek nagyobb valószínűséggel szenvednek krónikus szívbetegségben, mint azok, akiknek alacsony HDL-szintjük magas PON1 aktivitással társul [119]. A Caerphilly Prospective Study szerint [120] a PON1 aktivitása paraoxon szubsztráton 30%-kal alacsonyabbnak mutatkozott azokban a férfiakban, akik a közelmúltban AMI-n estek át, nem találtak azonban szignifikáns összefüggést a PON1 egyéb szubsztrátokon (diazoxon, fenilacetát) mért aktivitásával, vagy az enzimfehérje koncentrációjával. A legmagasabb PON1 aktivitású kvintilisbe esőknek 60%-kal kisebb esélyük volt a AMI-ra. A PON1 aktivitás a miokardiális infarktus HDL koncentrációtól független rizikófaktorának bizonyult.

Egyéb betegségekben szintén csökkent enzimaktivitást írtak le: ilyen a stroke [121-125], a perifériás érbetegségek [126], a cirrhosis hepatis és a májelégtelenség (csökkent az ApoA1 termelés és a reverz koleszterintranszport), a krónikus vírushepatitisek (krónikus gyulladás kövekeztében fokozott oxidatív stressz) [127-129], az Alzheimer-kór (szintén fokozott az oxidatív stressz) [130-136]. Tumoros betegségekben az immunfolyamatok, valamint a citosztatikumok okozta fokozott oxidatív stressz csökkenti a PON1-aktivitást [137-140].

Több korábbi vizsgálat mutatta ki, hogy a krónikus veseelégtelenségben, különösen a hemodialízis programban részt vevő betegekben, valamint vesetranszplantáció után csökken a humán paraoxonáz-1 enzim (PON1) aktivitása [69,77-78], [108,141-146]. Kardiiovaszkuláris megbetegedésben szenvedő dializált betegekben szignifikánsan alacsonyabb PON1 aktivitást találtak kardiiovaszkuláris betegségtől mentes művesekezelt betegekhez viszonyítva [147]. A PON1 koncentrációja, valamint a kardiiovaszkuláris és az összhalálozás között is összefüggést találtak vesebetegekben [148].

A PON1 mennyiségét és aktivitását részben az enzim molekuláris variabilitása határozza meg. A PON1 génnek két gyakori és több ritka polimorfizmusa ismert. A gyakori polimorfizmusok izolált nukleotidcserén alapuló missense-mutációk, melyek egy aminosav cseréjét eredményezik. Közülük is legjelentősebb a 192. aminosav polimorfizmusa (PON1-192), mely alapján kétféle izoenzim (Q és R) jöhet létre attól függően, hogy a 192. pozícióban glutamin (Q), vagy arginin (R) található. Mindkét enzim képes az organofoszfátok és az aromás észterek hidrolízisére, és különböző mértékben védi az LDL-t az oxidatív károsodástól. Egy in vitro vizsgálatban a PON1Q az LDL oxidációját 58-61%-kal csökkentette, viszont a PON1R csak 38-46%-kal. Míg a PON1Q elsősorban az LDL-oxidáció kezdeti fázisát gátolta, a PON1R az LDL-oxidáció kezdete után 1 órával volt a leghatékonyabb, ami arra utal, hogy a két alloenzim szubsztrátspecifitása különböző lehet. Mindkét izoenzim gátolta a foszfolipidek és koleszterinészterek oxidációját is. Míg a PON1Q aktivitása az LDL-oxidáció kezdete után 4 órával csak 28%-kal csökkent, a PON1R aktivitása 55%-kal. Egy másik vizsgálatban a HDL-t és LDL-t 6 órán át rézzel inkubálták. Míg a PON1-QQ-t hordozó HDL LDL-oxidációt gátló aktivitásának 57%-a megmaradt, a PON1-QR HDL antoxidáns aktivitásának már csak 25%-át, míg a PON1-RR HDL aktivitásának csak 1%-át tartotta meg. [8,149-151].

A PON1 aktivitását az 55. aminosav-pozíció polimorfizmusa is jelentősen befolyásolja. (PON1-55) Ha az 55. pozícióba leucin kerül, akkor L, míg metionin esetén M genotípusról beszélünk. Rézzel inkubálva a PON1-LL-t és PON1-LM-et hordozó HDL 6 óra elteltével antioxidáns aktivitásának már csak 22 ill. 30%-ával rendelkezett, míg a PON1-MM HDL még 50%-os aktivitással bírt. A PON1-55 és PON1-192 polimorfizmusok a PON1 aktivitásának fő determinánsai [150].

Mindkét polimorfizmusról bebizonyosodott, hogy a korai ateroszklerózissal járó megbetegedések független rizikófaktorai. Ezek a különbségek hozzájárulhatnak az alloenzimek ateroszklerózisban betöltött szerepének sokféleségéhez [151].

Jó veseműködésű betegeken végzett vizsgálatok kimutatták, hogy a PON1 kettős szubsztrát-módszerrel megbecsülhető a QR-genotípusok allélgyakorisága, sőt az enzim AB-fenotípusa jobban előrejelezte a kardiovaszkuláris eseményeket, mint a QR-genotípus [152-153]. A kettős szubsztrát-módszert széles körben alkalmazzák klinikai vizsgálatokban az allélfrekvencia becslésére, de csak kevés korábbi vizsgálat írta le a fenotípus és a genotípus eltérését, különösen hiányos az irodalom csökkent PON1-aktivitású betegek esetében. Korábban krónikus veseelégtelenségben szenvedő és vesetranszplantált betegekben a PON1 AB-fenotípusát [69,108,141,144], vagy az enzim QR-genotípusát [77,143,145] vizsgálták. Ezek többsége és saját korábbi vizsgálataink sem mutattak különbséget az előfordulási gyakoriságban. Olyan vizsgálatról azonban nem tudunk, amelyben együtt vizsgálták a genotípus és a fenotípus eloszlását krónikus veseelégtelenségben, vagy vesetranszplantált betegekben. Egészséges egyéneknél 7,2%-os eltérést írtak le a PON1 genotípusa és fenotípusa között [154].

A krónikus veseelégtelenség és a cisztatin C

A vesefunkció pontosabb meghatározására felvetődött a cisztatin C szerepe. A cisztatin C egy „housekeeping”-gén terméke, minden magvas sejtben konstans sebességgel szintetizálódik.

Alacsony molekulatömegű bázikus fehérje, amely szabadon filtrálódik a glomerulusokban, és tubuláris reabszorpcióját követően nem metabolizálódik, vagy szekretálódik [155]. A cisztatin C kiválasztása már a KVE korai fázisban csökken, így a vesefunkció beszűkülésének kreatininnél érzékenyebb markere, ezért pozitív korrelációt mutat a kardiovaszkuláris események előfordulásával [156-157], ugyanakkor a cisztatin C ateroszklerotikus plakkot stabilizáló, védő hatású, mivel gátolja a katepszin családba tartozó ciszteinproteázok működését, melyek képesek bontani az érfalakban található extracelluláris mátrix egyes alkotórészeit, például a kollagéneket és az elasztint [158]. Erre utal az is, hogy ApoE-deficiens egerekben a cisztatin C-deficiencia nagyméretű, megnövekedett makrofágtartalmú ateroszklerotikus plakkok képződésével jár [159].

A krónikus veseelégtelenség és a homocisztein

A homocisztein a kardiovaszkuláris és cerebrovaszkuláris megbetegedések rizikófaktor, így az ateroszklerotikus morbiditás és mortalitás független prediktora az átlagpopulációban és krónikus veseelégtelenségben szenvedő, különösen hemodialízis-programban részt vevő betegekben [160]. A homocisztein elősegíti az éretlenfehérje-választ, amely intracellulárisan inaktív fehérjék felhalmozódásához és végül a sejtek apoptózisához vezet, ezen felül fokozza a proinflammatorikus faktorok termelődését és az oxidatív stresszt [161]. A homociszteint a metionil-tRNS- (transzfer ribonukleinsav-)szintetáz homocisztein-tiolaktonná alakítja, amely reakcióba lép a fehérjék lizinláncával, károsítva azok struktúráját és gátolva élettani funkciójukat [162].

Korábbi vizsgálatok bizonyították, hogy a PON1 védő hatása a fehérje-homociszteinilációval szemben, mivel rendelkezik homocisztein-tiolaktonáz aktivitással [82]. Idősekben és hemodializáltakban pozitív korrelációt találtak a cisztatin C és a homocisztein között [163-164]. A cisztatin C már a vesefunkció kismértékű romlását is kimutatta, amely független előrejelzője az összhomocisztein szérumszintjének stabil állapotú, vesetranszplantáción

átesett betegekben [165]. Negatív korrelációt találtak a PON1 aktivitása és a homocisztein szintje között koronáriabetegekben [166], a cisztatin C és a PON1 viszonyát azonban korábban még nem vizsgálták.

Célkitűzés

Célul tűztük ki krónikus veseelégtelenségben szenvedő és vesetranszplantáción átesett betegekben az érlelmeszesedés rizikófaktorai és az antiaterogén tényezők vizsgálatát. Értékeltek azokat a vesefunkciótól függő paramétereket, amelyek részt vesznek az oxidatív folyamatokban, és befolyásolhatják az érlelmeszesedés egyes lépéseit. Olyan markereket kerestünk, amelyekkel megfelelően jellemezhetjük a vesebetegek kardiovaszkuláris rizikóstatusát.

Korábbi vizsgálatok a vesebetegekben csökkent PON1-aktivitást észleltek, melyet a csökkent HDL-koncentráció következményének tartottak, mivel a HDL a szérumban található PON1 fő hordozója [144]. Vizsgálatunk részben azon a korábbi megfigyelésünkön alapult, hogy a HDL szintje és a PON1 fenotípus-megoszlása fontos, de nem kizárólagos meghatározója lehet az enzim aktivitásának [167].

Mivel a vesebetegek dyslipidaemiája egyes primer dyslipidaemiás betegekhez, különösen a 2B fenotípushoz hasonlóan triglicerid- és/vagy összkoleszterin-emelkedéssel, valamint a HDL-C csökkenésével jár, betegeinket primer dyslipidaemiásokkal is összehasonlítottuk, hogy kiküszöböljük az örökletes faktorok és környezeti tényezők hatását.

- Mivel korábban nem született átfogó vizsgálat a PON1-aktivitás, -genotípus és -fenotípus megoszlási gyakoriságának felmérésére az átlagpopulációban, ezért vizsgálatunk egyik célja volt, hogy egy nagyobb referencia-populációban mérjük fel a védő hatású HDL legfontosabb antioxidáns enzime, a PON1 aktivitásának, genotípusának és fenotípusának előfordulását. Azt vizsgáltuk, különbözik-e az átlag- és betegpopuláció genotípus- és fenotípus-megoszlása, így lehet-e oki összefüggés a PON1 genotípusa, vagy fenotípusa, illetve a vesebetegség között.

- A PON1 fenotípusának és genotípusának gyakoriságát krónikus veseelégtelenségben szenvedő (KVE) és vesetranszplantált (TX) betegekben összehasonlítottuk az átlagpopulációt képviselő kontrollcsoport (K) adataival, hogy megtudjuk, van-e eltérés a fenotípus és a genotípus között krónikus veseelégtelenségben és vesetranszplantációt követően, ahol korábbi vizsgálatunk során alacsony PON1 aktivitást találtunk [108]. Arra számítottunk, hogy vesebetegekben is az átlagpopulációban észlelt különbséget találjuk.
- Megvizsgáltuk, hogyan változik betegeinkben a prooxidáns homocisztein, oxLDL és tiobarbitursavval reagáló anyagok (TBARS) koncentrációja. Arra számítottunk, hogy a prooxidánsok magasabb szintjét találjuk mindkét betegcsoportban.
- Vizsgáltuk továbbá a cisztatin C, a paraoxonáz aktivitás és a homocisztein összefüggését krónikus veseelégtelenségben szenvedő (KVE) és vesetranszplantált (TX) betegekben, valamint az átlagpopulációt reprezentáló kontrollcsoportban (K). Arra számítottunk, hogy összefüggés van krónikus veseelégtelenségben és vesetranszplantációt követően a vesefunkciót tükröző cisztatin C és az antioxidáns PON1 paraoxonáz aktivitása, valamint a prooxidáns homocisztein között.
- Arra is keresük a választ, hogy a vizsgált paraméterek közül melyiknek lehet nagyobb jelentősége a vesebetegek érlelmeszesedésének kialakulásában, így melyek követése lehet diagnosztikus értékű a jövőben.
- Megvizsgáltuk, hogy vesebetegekben és primer dyslipidaemiában szenvedőkben a HDL-C csökkenése különbözőképpen hat-e a PON1 enzimfehérje mennyiségére, és eltérő mértékben befolyásolja-e az enzim arilészteráz aktivitását és/vagy antioxidáns kapacitását, melyet a paraoxonáz aktivitás jellemez. Mivel az alacsony HDL-C-nel rendelkező krónikus veseelégtelenségben szenvedő és vesetranszplantált betegek kardiovaszkuláris rizikója még az alacsony HDL-C-szintű, primer dyslipidaemiás

betegeket is meghaladja, arra számítottunk, hogy az arilészteráz és paraoxonáz aktivitás, a fenotípusok megoszlása, vagy a lipidprofil különbözni fog az alacsony HDL-C-szintű krónikus veseelégtelenségben szenvedő (KVE), vesetranszplantált (TX), és primer dyslipidaemiás (DL) betegek között.

Betegek és módszerek

Betegek

Az első, PON1 genotípusokat és fenotípusokat összehasonlító vizsgálatba 117 krónikus veseelégtelenségben szenvedő és 146 vesetranszplantált beteget vontunk be szakrendeléseinkről, valamint 1185 átlagpopulációt jellemző kontroll egyént a Háziorvosi Morbiditási Adatgyűjtési Programból.

A második, vesebetegeket primer dyslipidaemiákkal összehasonlító vizsgálatban 116 krónikus veseelégtelenségben szenvedő, 52 vesetranszplantált és 60 primer dyslipidaemiás beteg (triglicerid >1,7 mmol/l és/vagy összkoleszterin >5,2 mmol/l, GFR(MDRD) >60 mmol/l) szerepelt szakrendeléseinkről, akiket alacsony HDL-C (férfi: <1 mmol/l, nő: <1,3 mmol/l) és normál HDL-C (férfi: >1 mmol/l, nő: >1,3 mmol/l) alcsoportokba osztottunk.

A harmadik, a PON1 aktivitása, a cisztatin C és a homocisztein összefüggését meghatározó vizsgálatba szakrendeléseinkről 74 krónikus veseelégtelenségben szenvedő, 171 vesetranszplantált beteget, valamint 110 egészséges kontroll egyént (GFR(MDRD) >60 mmol/l) vontunk be.

A vizsgálatba a 2008. január 1. és 2010. augusztus 30. között az I. Belklinika Műveseállomásán (jelenleg Extracorporalis Szevpótló Centrum) és Lipid Szakrendelésén, a Kenézy Kórház Műveseállomásán (jelenleg B. Braun Kft.) és a Sebészeti Klinika (jelenleg Sebészeti Intézet) Transzplantációs Szakrendelésén megjelent betegeket vontuk be.

A veseelégtelenségben szenvedő betegek hetente háromszor részesültek négyórás hemodialízis-kezelésben. A betegek optimális száraz testtömegét bioimpedancia-vizsgálattal határoztuk meg (BIODYNAMICS 310), majd kiszámoltuk az ultrafiltrátum mennyiségét.

A vesetranszplantált betegek kombinált immunszuppresszív terápiában részesültek (ciklosporin vagy takrolimus, azatioprin vagy mikofenolát mofetil, valamint metilprednizolon) cadaver

vesetranszplantációt követően. A ciklosporin (Sandimmun-Neoral) plazmaszintjét (a völgykoncentráció terápiás tartománya: 100-200 µg/l) fluoreszcens polarizációs immunassay (FPIA, Abbott) segítségével határoztuk meg, az 1. hónapban naponta, a 2-5. hónap során heti, a 6-12. hónap között kétheti, ezután havi rendszerességgel. Kezdetben 20 mg metilprednizolont alkalmaztunk, melynek dózisát 5 mg-onként, fokozatosan csökkentettük az adott beteg állapotának megfelelően, individuális ütemben.

Az azatioprint (Imuran) 1-2 mg/ttkg dózisban, per os alkalmaztuk, rendszeres vérképpenőrzés mellett.

Az első vizsgálatban a referencia-populációt a Háziiorvosi Morbiditási Adatgyűjtési Program indításától kezdve 2001-ig a rendszerben regisztrált egyének összessége alkotta, innen a kontrollcsoportot alkotó személyek véletlenszerűen kerültek kiválasztásra. Ez a folyamatosan működő, bizonyos megbetegedéseket nyilvántartó hálózat a Debreceni Egyetem Népegészségügyi Iskolája és az Állami Népegészségügyi és Tisztiorvosi Szolgálat együttműködése révén jött létre 1998-ban. A megfelelő kontrollcsoport kijelöléséhez a célpopulációt leszűkítettük a 20 évnél idősebbekre, akik a Magyarország keleti és nyugati részét egyaránt képviselő 4 megye 22 családorvosánál voltak nyilvántartva, és akik egészségügyi, társadalmi és gazdasági szempontból megfelelően képviselhetik a referenciapopulációt [168]. A háziiorvosok kiválasztásánál szempont volt, hogy a földrajzi eloszlás és a településnagyság szempontjából reprezentatív mintát alkossanak.

Első vizsgálatunkban a beválasztás feltétele volt a 21-70 év közötti életkor, a fontosabb gyulladásos markerek élettani szintje (C-reaktív protein (CRP), fehérvérsejtszám, vörösvérsejt-süllyedés, vérkenet) és a normál Lp(a).

A második és harmadik vizsgálatba vizsgálati periódus alatt a szakrendelésünkre kerülő felnőtt betegek közül a kizárási kritériumok figyelembe vételével bevonhatónak bizonyuló betegek mindegyike beválasztásra került. A kontrollcsoportokba egészséges ill. primer

dyslipidaemiás, 60 mmol/l fölötti számított GFR-rel rendelkező betegeket vontunk be szakrendelésünkről, akiknek egyéb betegségükről nem volt tudomásuk, és a kizárási kritériumok figyelembe vételével bevonhatónak bizonyultak.

Kizárási kritériumként szerepelt a diabetes mellitus és az emelkedett éhomi glükóz, az emelkedett májenzimekkel jellemzett vagy anamnesisben szereplő májbetegség és az alkohol- vagy drogfüggőség, az epekövesség, a közelmúltban zajlott miokardiális infarktus, az endokrin betegségek, a terhesség és a szoptatás, a humán immundeficiencia-vírus- (HIV-)pozitivitás, a súlyos mentális retardáció (intelligencia-hányados: $IQ < 40$), a dohányzás, és kizárásra kerültek a daganatellenes kemoterápiában részesülő betegek, valamint első vizsgálatunkból a 4,5 mmol/l-nél magasabb TG-értékű és az antikoaguláns kezelésben részesülő betegek is.

A betegek és kontrollok a vizsgálat jellegéről és céljáról szóló részletes felvilágosítást követően beleegyező nyilatkozatot írtak alá. A Debreceni Egyetem Etikai Bizottsága hozzájárult a vizsgálathoz (eng. sz.:2627A-2007).

Az egyes csoportok betegszáma az **1. táblázat**ban, a demográfiai adatok a **2.**, az **5.** és a **7. táblázat**ban találhatók.

1. táblázat: A vizsgálatokban részt vevő betegek száma (1.+2.+3. vizsgálat)

	K	KVE	TX	Össz
1.	1185	117	146	1448
2.	43+17 (DL)	69+47	16+36	228
3.	110	74	171	355
1.+2.+3. összesen:		2031		

Vérvétel

12 órás éhezést követően 10 ml vénás vért vettünk reggel 7:30 és 8:00 között, dializált betegekben a dialízis napján, azt megelőzően.

A mintákból a Hajdú-Bihar Megyei Kenézy Kórház Központi Laboratóriumában (2. vizsgálat) és a Debreceni Egyetem Laboratóriumi Medicina Intézetében (1. és 3. vizsgálat) standard laboratóriumi módszerekkel meghatározták a hemoglobin, hematokrit, fehérvérsejtszám, vörösvérsejt-süllyedés, májenzimek, urea, kreatinin, kreatin kináz, fibrinogén, CRP, bilirubin, húgysav, szérum glükóz, összkoleszterin, HDL-C, LDL-C, ApoA1, ApoB és TG szinteket, valamint az I. Belklinika Kutató Laboratóriumában meghatároztam a szérum paraoxonáz és arilészteráz aktivitását.

A lipidparaméterek, a homocisztein, a cisztatin C és a TBARS koncentrációjának meghatározása friss szérumból történt. A paraoxonáz aktivitás méréséig a szérumot -70°C -on tároltuk.

Lipidparaméterek

A szérum összkoleszterin- és TG-meghatározás enzimátikus, kolorimetriás módszerrel, a HDL-C esetében homogén, enzimátikus módszerrel (HDL plus 3rd generation) történt Modular P-800 analizátoron (Roche/Hitachi). Az LDL-C arányát az első és második vizsgálatban Friedewald-egyenlettel, míg a harmadikban direkt enzimátikus módszerrel határoztunk meg [169-170]. Az apolipoproteineket immun-turbidimetriás módszerrel határoztuk meg (Tina-Quant ApoA és ApoB Version 2, Roche).

Paraoxonáz-aktivitás

A PON1 enzimfehérje paraoxonáz- (PON-)aktivitását a korábbi irodalomban javasolt módszerrel határoztam meg. Szubsztrátnak paraoxont (O,O-dietil-O-p-nitrofenilfoszfát, Sigma) használtam, és spektrofotometriás módszerrel meghatároztam a képződő 4-nitrofenol mennyiségét. 50 μl szérumot 1 ml Tris/HCl pufferben oldottam fel (100 mmol/l, pH=8,0), amely 2 mmol/l CaCl_2 -ot és 5,5 mmol/l paraoxont tartalmazott. Az abszorbanciamérést 412 nm-en, 25°C -on végeztem, Hewlett-Packard 8453 UV-visible spektrofotométerrel. Az

enzimaktivitást $17.100 \text{ mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ moláris extinkciós koefficiens segítségével számítottam ki. A paraoxonáz aktivitást U/ml-ben fejeztem ki. Egységnyi (1 U) PON-aktivitásnak felel meg, ha a fent leírt körülmények között percenként $1 \text{ } \mu\text{mol}$ 4-nitrofenol keletkezik [108,171].

Arilészteráz-aktivitás

A PON1 enzimfehérje arilészteráz- (Aryl-)aktivitását a korábbi irodalomban javasolt módszerrel határoztam meg. A reakcióhoz 1 mmol/l fenilacetátot (Sigma) és 20 mmol/l Tris/HCl puffert ($\text{pH}=8,0$) tartalmazó oldatot használtam, szérum hozzáadását követően az abszorbanciamérést 270 nm hullámhosszon végeztem. Szubsztrátvak segítségével korrigáltuk a fenilacetát spontán hidrolízisét. Az enzimaktivitást $1,310 \text{ mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ moláris extinkciós koefficiens segítségével számítottam ki. Az arilészteráz aktivitást U/ml-ben fejeztem ki. Egységnyi (1 U) arilészteráz aktivitásnak felel meg, ha a fent leírt körülmények között percenként $1 \text{ } \mu\text{mol}$ fenilacetát bomlik le [77,108].

Fenotípus-megoszlás

A PON1 fenotípus-megoszlását kettős szubsztrát-módszerrel végeztem. Az enzimet kódoló gén PON1-192QR polimorfizmusa alapján két alloenzim képződhet: A (kis aktivitású) és B (nagy aktivitású). Az enzim 1 mmol/l NaCl jelenlétében mért paraoxonáz (só-stimulált paraoxonáz) és arilészteráz aktivitásának aránya alapján az egyéneket három különböző csoportba soroltam (AA-, AB- és BB-fenotípus). A határértékek a következők voltak: AA-fenotípus: az arány $<3,0$; AB-fenotípus: az arány $3,0-7,0$; BB-fenotípus: az arány $>7,0$. Az AA alacsony, az AB közepes és a BB magas enzimaktivitásnak felel meg [153,171].

Genotípus-megoszlás

A PON1-55 és a PON1-192 polimorfizmusokat a korábbi irodalomban javasolt, fluoreszcens rezonancia-energiatranszfert (FRET) és olvadáspont-analízist kombináló módszerrel határoztuk meg (Light Cycler real-time technológia) [172]. A PON1 gén PON1-55 és PON1-

192 polimorfizmusait körülvevő régióit 151- és 138-bp méretű amplikonokat eredményező amplifikációját végeztük (Népegészségügyi Iskola). A PON1-55 genotípezésére használt próbát 5'-LC Red 640 festékkel, míg a PON1-192-höz LC Red 704 fluorofórral jelöltük. Mindkét próbapár upstream, egymástól 2 nukleotid távolságra helyezkedik el. Mindkét primert és a fluoreszcens jelölésű próbákat a TIB Molbiol Co. állította elő. A polimeráz-láncreakciót és az olvadáspont-analízist 20 µl-es üvegkapillárisokban végeztük (Roche). Az olvadáspont-analízis és az azt követő ultragyors polimeráz-láncreakció alatt monitoroztuk a fluoreszcencia intenzitását. Az olvadási görbék csúcspontjait a fluoreszcens szignál negatív deriváltjának hőmérséklethez való viszonyának ábrázolásával nyertük.

Az 55. pozícióban észlelt Leu L, míg a Met M, a 192. pozícióban a Gln Q, míg az Arg R genotípusnak felel meg.

Tiobarbitursavval reagáló anyagok

A TBARS mennyiségét spektrofotometriás módszerrel határoztuk meg. 600 µl tiobarbitursav reagenshez 300 µl plazmát adtunk. A mintákat 15 percig 100 °C-on forraltuk, majd hűtést követően a TBAR-okat 3 ml n-butanollal extraháltuk. A szerves fázis abszorbanciát 532 nm-en Hewlett Packard 8453 spektrofotométerrel mértük, majd az eredményt $1,56 \times 10^5 \text{ mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ moláris extinkciós koefficiens segítségével számítottuk ki [173].

Oxidált LDL

Az oxLDL-t szendvics-ELISA (enzimhez kötött immunoszorbens) módszerrel mértük (WAK-Chemie Medical GmbH). Az EDTA-val (etilén-diamin-tetraecetsav) antikoagulált plazmát egérből származó monoklonális anti-oxLDL-antitesttel fedett mikrotiter-csíkokkal inkubáltuk. A nem reaktív plazmakomponensek eltávolítását követően puffert és peroxidázzal konjugált anti-apolipoprotein B-t tartalmazó oldatot adtunk a mintához, amely a szilárd fázishoz fixált oxLDL-hez kötődött. Mosással eltávolítottuk a nem kötődő antitesteket, majd tetrametil-benzidint adtunk az oldathoz kromogén szubsztrátnak. Az oxLDL koncentrációját a

színváltozás alapján spektrofotometriás módszerrel mértük. Az oxLDL plazmaszintjét tisztított oxLDL segítségével felvett standard görbe segítségével határoztuk meg [174].

Homocisztein és cisztatin C

A homociszteint és a cisztatin C-t a Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum Laboratóriumi Medicina Intézetében, valamint a Kenézy Kórház Laboratóriumában határozták meg.

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

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

Statisztikai módszerek

A vizsgálat első részében a statisztikai értékelést a Stata 8.2 programmal végeztük. A PON1-55 és a PON1-192 allélgyakoriságát, a genotípusok mennyiségét és frekvenciáját kiszámítottuk a betegcsoportokban és a kontrollcsoportban. A gének számolásával nyert allélgyakoriság meghatározását követően χ^2 -próbát alkalmaztunk, hogy ellenőrizzük a Hardy-Weinberg-törvény érvényességét a vizsgált populációban. A kapott eredményeket, a folytonos változók átlagát és szórását, valamint a genotípusok és allélek gyakoriságát nemek szerint is

megvizsgáltuk. A lipidparaméterek és a genotípus, valamint az egyes alléleket hordozó státusz szerint lineáris regressziót számoltunk. A lipidparaméterek ferde eloszlása esetén logaritmikus transzformációt alkalmaztunk az eloszlás normalizálására. Nemre és életkorra korrigáltuk a modelleket. Az elemzés során a PON1-55M és a PON1-192Q genotípusokat választottuk referencia-kategóriának.

A második vizsgálatban az SPSS programot használtuk. Először a Kolmogoroff-Smirnoff normalitáspróbával és a Levene-próbával megvizsgáltuk, hogy a paraméteres módszerek alkalmazhatóak-e. Mivel a legtöbb paraméter (különösen az alacsony HDL-csoportban) nem mutatott normál eloszlást, ANOVA (varianciaanalízis) helyett a nem-parametrikus Kruskal-Wallis-próbát alkalmaztuk, hogy megvizsgáljuk, befolyásolja-e az egyes paramétereket a veseelégtelenség és a vesetranszplantáció. Mivel a legtöbb csoportban a paraméterek nem normál eloszlást mutattak, az átlagok és szórások nem voltak megfelelőek az adatok középső értékeinek és eloszlásának szemléltetésére. Ezen esetekben a mediánt, valamint az alsó és felső kvartilist tüntettük fel táblázatainkban és ábráinkon. A betegcsoportok nem, dohányzás és fenotípus szerinti megoszlásának meghatározására a Pearson-féle χ^2 -próbát alkalmaztuk.

A harmadik vizsgálat statisztikai értékelését a SAS for Windows 6.12 programmal végeztük (SAS Institute, Cary NC 275313 USA). Először a Kolmogoroff-Smirnoff normalitáspróbával és a Levene-próbával megvizsgáltuk, hogy a parametrikus módszerek alkalmazhatóak-e. Ferde eloszlás esetén logaritmikus transzformációt alkalmaztunk az eloszlás normalizálására. A csoportokat kétmintás *t*-próbával hasonlítottuk össze, szignifikánsnak tekintettük a $p < 0,05$ értéket. A folytonos változók közötti korrelációt Spearman-féle regresszió-analízissel határoztuk meg.

Eredmények

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

Demográfiai adatok és lipidparaméterek

Az egyes csoportok demográfiai adatait a **2. táblázat** tartalmazza. A magyar referenciapopulációnak megfelelő kontrollcsoport mintaszáma 1185 főnek adódott (551 férfi, 629 nő, 5 ismeretlen). Az egyéb adatok közül egyes esetekben hiányzott az életkor, a triglicerid vagy az összkoleszterin (egyenként 5 egyén=0,42%, 6 egyén=0,51%, illetve 8 egyén=0,68%). A referenciapopulációból HDL-, ApoA1- és ApoB-adatok nem álltak rendelkezésre. Szignifikánsan magasabb magasabb LDL-C-t, HDL-C-t, ApoA1-et és ApoB-t találtunk a vesetranszplantáltakban a KVE-hez viszonyítva ($p < 0,005$, **2. táblázat**).

2. táblázat: A vizsgált populáció lipidparaméterei, paraoxonáz-aktivitása és demográfiai paraméterei (1. vizsgálat)

	KVE	TX	K
Szám	117	146	1180
Nem (ffi/nő)	57/60	97/49	551/629
BMI	23,8±4,2	25,12±4,1	26,11±4,9
Kor (év)	59,5±14,7	41,5±9,3	47,0±17,0
Összkoleszterin (mmol/l)	5,13±1,45	5,86±1,73	5,21±1,13
Triglicerid (mmol/l)	2,08±1,46	2,21±1,48	1,7±2,04
HDL-koleszterin (mmol/l)	1,15±0,37	1,31±0,34 ^b	nincs adat
LDL-koleszterin (mmol/l)	3,06±1,12	4,09±1,39 ^c	nincs adat
ApoA1 (g/l)	1,27±0,30	1,54±0,31 ^c	nincs adat
ApoB (g/l)	1,07±0,43	1,34±0,51 ^b	nincs adat
Urea (mmol/l)	20,8±4,0	9,9±4,8	nincs adat
Kreatinin (μmol/l)	878±96	147±55	nincs adat
Paraoxonáz-aktivitás (U/ml)	101,49 (79,76–128,84)	123,97 (98,99–156,34)	111,05 (99,29–124,21)
Arilészteráz-aktivitás (U/ml)	66,87 (58,91–75,98) ^a	87,14 (77,25–98,39)	85,46 (80,56–90,74)
Só-stimulált paraoxonáz-aktivitás (U/ml)	193,06 (143,88–258,79)	237,63 (179,65–314,19)	211,66 (184,56–242,74)

A paraoxonáz-, arilészteráz- és só-stimulált paraoxonáz-aktivitás eredményeit a medián és zárójelben a 95%-os konfidencia-intervallumok, a lipidértékeket átlag±SD (standard deviáció) formájában adtuk meg

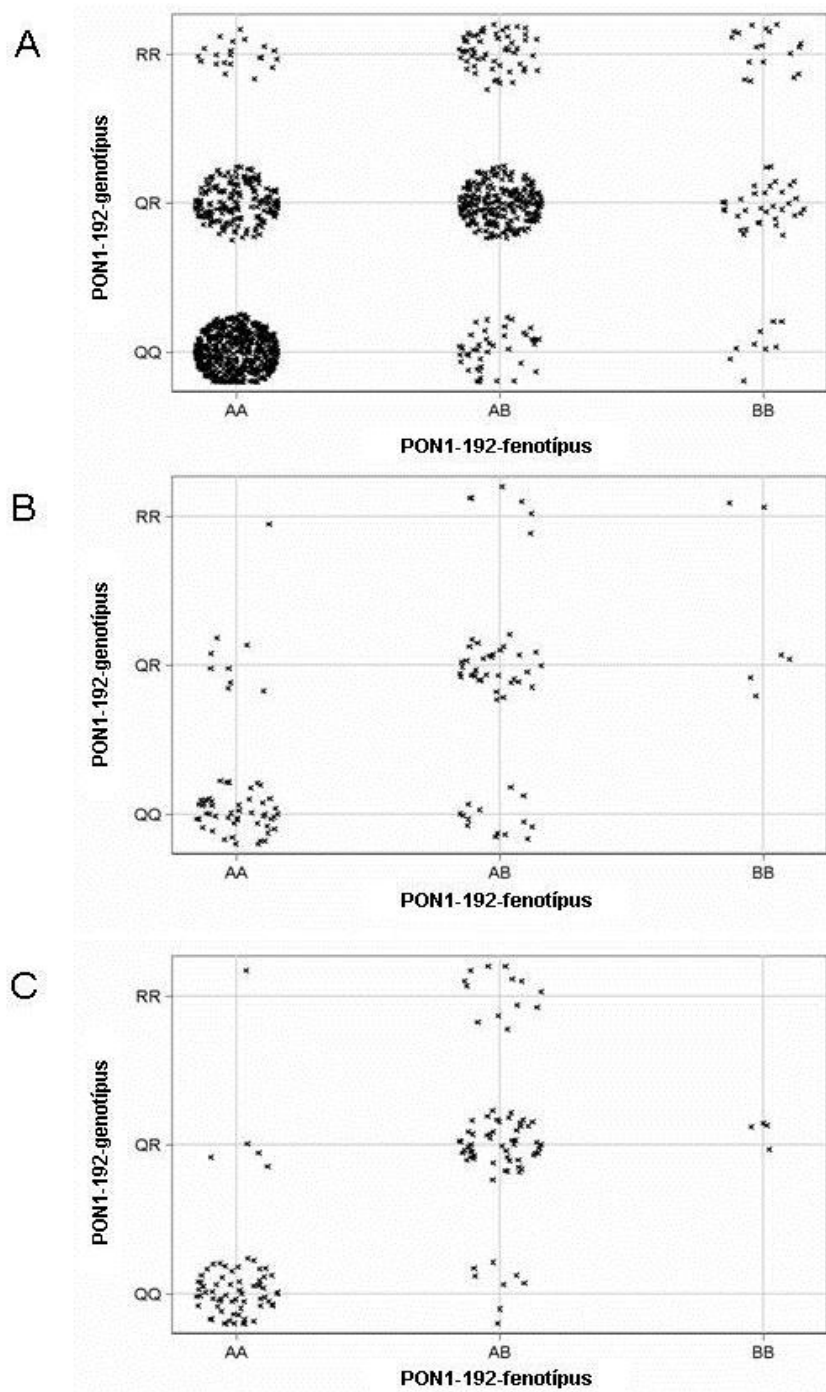
^a $p < 0,0001$ a kontrollhoz viszonyítva; ^b $p < 0,005$ és ^c $p < 0,001$ a krónikus veseelégtelenségben szenvedő csoporthoz viszonyítva

Fenotípus- és genotípus-megoszlás

A fenotípus- és genotípus-meghatározással nyert allélgyakoriságokat a **3. táblázat** és az **1. ábra** tartalmazza. Az egyes allélek frekvenciája megfelelt a korábbi vizsgálataink eredményeinek és az irodalomban találtaknak mind a fenotípus, mind a genotípus tekintetében, és követte a Hardy-Weinberg-törvényt. A megoszlásokban nem volt szignifikáns különbség a vizsgált betegcsoportok között.

3. táblázat: A vizsgált populáció PON1–55 és PON1–192 genotípusa, valamint a fenotípus-megoszlás (1. vizsgálat)

	KVE		TX		K	
	esetszám	arány(%)	esetszám	arány(%)	esetszám	arány(%)
PON1–55-genotípus						
LL	12	10	14	10	143	12
LM	54	46	69	47	555	47
MM	51	44	63	43	486	41
L	78	33	97	33	841	36
M	156	67	195	67	1527	64
<i>Összesen</i>	<i>117</i>		<i>146</i>		<i>1184</i>	
PON1–192-genotípus						
QQ	62	53	71	49	600	51
QR	46	40	61	42	482	41
RR	9	8	14	10	102	9
Q	170	73	203	70	1682	71
R	64	27	89	30	686	29
<i>Összesen</i>	<i>117</i>		<i>146</i>		<i>1184</i>	
PON1-fenotípus						
AA	57	49	68	47	730	64
AB	54	46	74	51	341	30
BB	6	5	4	2	62	5
A	168	72	210	72	1801	79
B	66	28	82	28	465	21
<i>Összesen</i>	<i>117</i>		<i>146</i>		<i>1133</i>	



1. ábra: Az allélek gyakorisága a kontrollcsoportban (A), krónikus veseelégtelenségben szenvedő (B) és vesetranszplantált (C) betegekben a PON1-192 genotípus- és (y) fenotípus-meghatározásával (x) (1. vizsgálat)

Fenotípusok és genotípusok összehasonlítása

A fenotípusok és genotípusok közötti különbség a vártnál jelentősebbnek bizonyult. Az eltérés 29,58% (413/1396) volt a teljes vizsgált populációban, 30,9% (350/1133) a kontrollcsoportban, 28,2% (33/117) KVE-ben, 20,6% (30/146) TX-ban (**4. táblázat**). A betegcsoportokban a legnagyobb különbségek az AB- és BB-fenotípusoknál voltak észlelhetőek (20,5% KVE és 17,1% TX betegekben), míg a kontrollcsoportban a legnagyobb eltérés az AA- (18,1%) és az AB-fenotípusoknál (12,8%) volt megfigyelhető. A teljes vizsgált populációban a genotípusoknál a különbségek a következők voltak: 5,4% Gln192-nél (PON-192-QQ), 17,1% Gln192Arg-nél (PON-192-QR) és 7,1% Arg192-nél (PON-192-RR) (**4. táblázat és 1. ábra**).

4. táblázat: PON1–192 genotípusok a kontrollcsoportban, krónikus veseelégtelenségben szenvedő és vesetranszplantált betegekben (1. vizsgálat)

PON1–192-genotípus (esetszámok)	PON1–192-fenotípus			Összesen
	AA	AB	BB	
K				
QQ	525	44	9	578
QR	184	240	35	459
RR	21	57	18	96
<i>Összesen</i>	<i>730</i>	<i>341</i>	<i>62</i>	<i>1143</i>
KVE				
QQ	48	14	0	62
QR	8	34	4	46
RR	1	6	2	9
<i>Összesen</i>	<i>57</i>	<i>54</i>	<i>6</i>	<i>117</i>
TX				
QQ	63	8	0	71
QR	4	53	4	61
RR	1	13	0	14
<i>Összesen</i>	<i>68</i>	<i>74</i>	<i>4</i>	<i>146</i>

Paraoxonáz-, arilészteráz- és só-stimulált paraoxonáz-aktivitás

A PON- és a só-stimulát PON-aktivitás nem különbözött szignifikánsan KVE és TX betegekben a kontrollcsoporthoz viszonyítva. Az arilészteráz-aktivitás szignifikánsan alacsonyabb volt KVE-ben a kontrollokhoz képest ($p < 0,001$, **2. táblázat**).

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

Arilészteráz-aktivitás

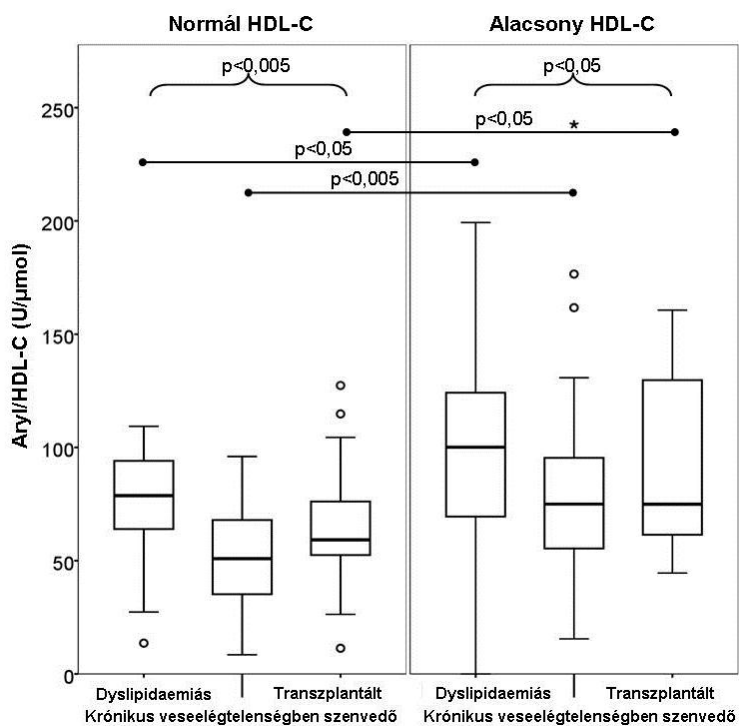
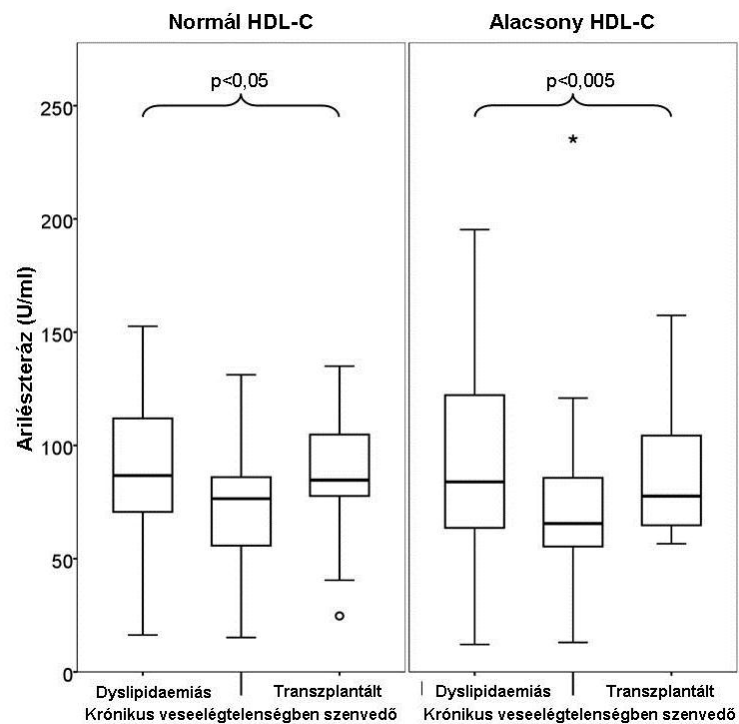
Az arilészteráz-aktivitás, mely a PON1-enzimfehérje mennyiségével arányos, szignifikánsan függött a veseelégtelenség és a vesetranszplantáció jelenlététől a normál ($p < 0,05$) és az alacsony HDL-C csoportban egyaránt ($p < 0,005$) (**2A. ábra, 5. táblázat**). Az arilészteráz-aktivitás alacsonyabb volt KVE-ben, mint dyslipidaemiában, a transzplantált betegeké a kettő között volt.

Mivel a PON1 döntő többsége HDL-hez asszociált, megvizsgáltuk, hogy a HDL-C befolyásolja-e az arilészteráz-aktivitást. Az arilészteráz/HDL-C arány (Aryl/HDL-C) szintén szignifikánsan függött kórelőzményben szereplő veseelégtelenség és vesetranszplantáció jelenlététől a normál ($p < 0,005$) és az alacsony HDL-C-szintű csoportban ($p < 0,05$). Az Aryl/HDL-C szignifikánsan magasabb volt az alacsony HDL-C-szintű betegekben mindhárom csoportban a normál HDL-C-hez viszonyítva ($p < 0,05$) (**2B. ábra, 5. táblázat**).

5. táblázat: A vizsgált populáció adatai és demográfiai paraméterei (2. vizsgálat)

		Normál HDL-C (medián és kvartilisek)		Alacsony HDL-C (medián és kvartilisek)	
Kor (év)	DL	49,8 (44,2-61,0)	***	47,7 (38,3-56,0)	***
	KVE	63,8 (49,2-71,1)		58,3 (45,3-70,6)	
	TX	46,2 (32,4-56,2)		45,6 (35,7-53,2)	
BMI (kg/m ²)	DL	28,1 (25,5-31,4)	***	26,7 (25,1-34,0)	**
	KVE	23,0 (20,6-25,8)		23,4 (20,8-26,1)	
	TX	25,9 (23,8-28,0)		25,9 (elégtelen adat)	
Triglicerid (mmol/l)	DL	1,4 (1,0-3,6)	*	3,6 (2,0-5,0)	***
	KVE	1,3 (0,9-1,9)		1,9 (1,5-2,8)	
	TX	1,9 (1,3-2,6)		2,3 (1,6-3,7)	
Összkoleszterin (mmol/l)	DL	5,1 (4,1-6,1)	***	5,5 (4,3-6,5)	
	KVE	5,5 (4,5-6,6)		4,9 (4,1-5,8)	
	TX	6,5 (5,4-7,8)		5,1 (4,5-6,9)	
HDL-C (mmol/l)	DL	1,2 (1,1-1,3)	***	0,9 (0,9-1,0)	
	KVE	1,5 (1,2-1,7)		0,9 (0,8-1,1)	
	TX	1,4 (1,2-1,6)		1,0 (0,9-1,1)	
LDL-C (mmol/l)	DL	3,2 (2,4-3,8)	***	3,0 (2,4-3,6)	
	KVE	3,2 (2,0-4,0)		3,0 (2,3-3,4)	
	TX	4,3 (3,3-5,1)		3,2 (2,9-4,2)	
PON/HDL-C (U/μmol)	DL	80,9 (47,0-139,4)		83,5 (57,5-164,8)	
	KVE	67,8 (49,3-98,4)		88,4 (53,7-127,9) [†]	
	TX	82,1 (49,6-107,5)		74,7 (48,9-188,2)	
PON/ApoA1 (U/mg)	DL	68,9 (44,5-121,9)		70,9 (43,4-141,1)	
	KVE	63,6 (53,0-97,0)		70,8 (43,3-107,3)	
	TX	71,6 (48,4-98,6)		59,3 (37,8-132,3)	
PON (U/ml)	DL	101,4 (59,9-155,0)		71,6 (46,5-159,9)	
	KVE	103,0 (71,1-122,3)		83,0 (45,1-122,2)	
	TX	108,4 (74,5-153,2)		71,0 (51,8-182,6)	
Aryl/HDL-C (U/μmol)	DL	78,7 (63,3-94,7)	***	100,1 (68,9-124,7) [†]	*
	KVE	50,9 (34,3-68,2)		75,0 (54,8-95,5) ^{†††}	
	TX	59,2 (47,6-76,5)		74,9 (59,8-134,7) [†]	
Aryl/ApoA1 (U/mg)	DL	67,1 (50,9-80,7)		65,8 (43,6-95,2)	
	KVE	50,2 (40,4-64,9)		62,0 (43,4-78,6)	
	TX	54,9 (41,2-67,2)		56,5 (49,8-83,3)	
Arilészteráz (U/ml)	DL	86,7 (63,9-115,0)	*	83,9 (63,4-122,4)	***
	KVE	76,5 (55,7-86,0)		65,5 (54,8-85,7)	
	TX	84,7 (74,6-106,8)		77,6 (64,1-105,9)	
ApoA1 (g/l)	DL	1,47 (1,34-1,53)	*	1,29 (1,17-1,35)	***
	KVE	1,40 (1,21-1,70)		1,13 (1,01-1,26)	
	TX	1,57 (1,36-1,92)		1,30 (1,19-1,45)	
ApoB (g/l)	DL	1,15 (0,80-1,35)	*	1,24 (0,99-1,40)	*
	KVE	0,98 (0,71-1,43)		0,98 (0,80-1,27)	
	TX	1,25 (0,95-1,73)		1,11 (0,79-1,71)	

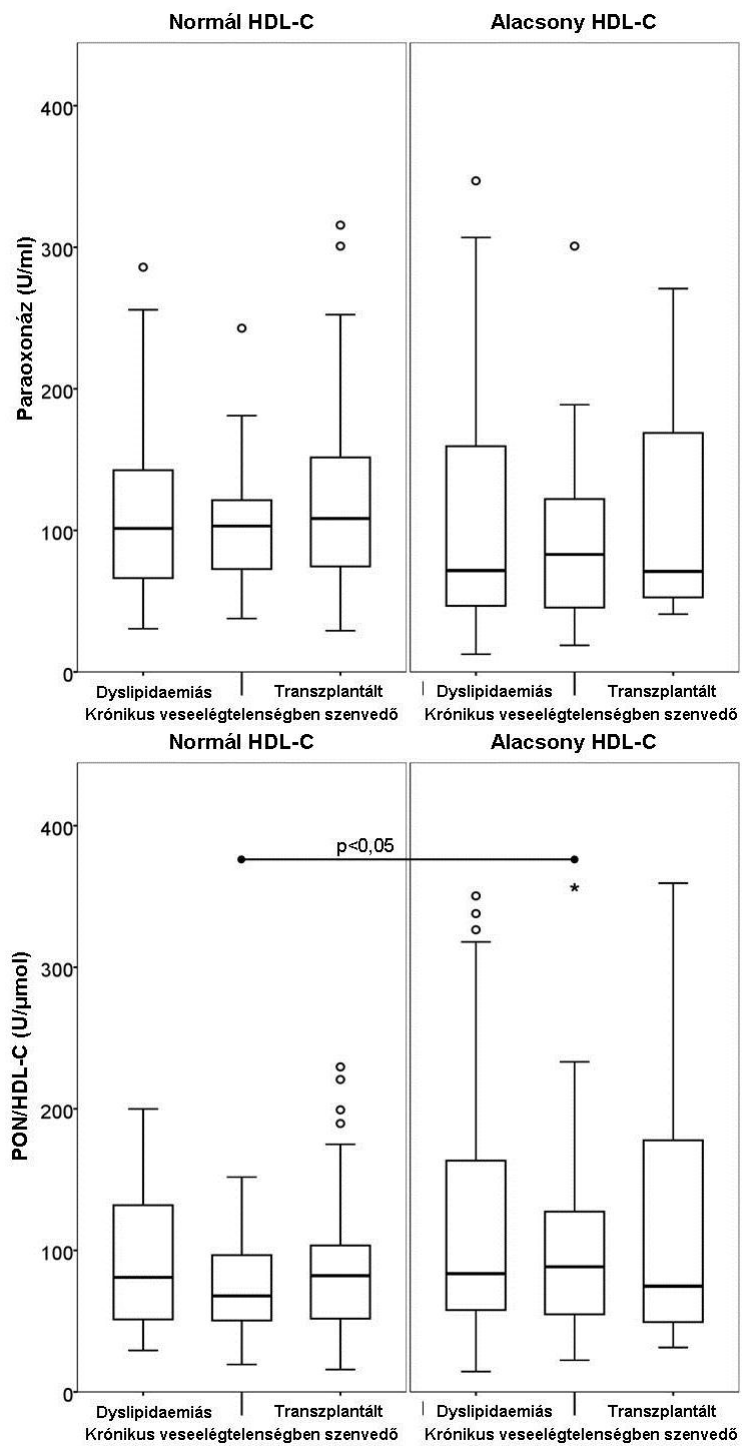
DL: primer dyslipidaemiás betegek; KVE: krónikus veseelégtelenségben szenvedő betegek; TX: vesetranszplantált betegek. A veseelégtelenség és a vesetranszplantáció jelenlététől szignifikánsan függő paraméterek: * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,005. A megfelelő normál HDL-C csoporttól szignifikánsan különböző paraméterek: [†] p<0,05; ^{†††} p<0,005. A KVE csoportban a hemodialízis-programban eltöltött idő átlaga: 26,1±10,7 hónap. A TX csoportban a transzplantáció óta eltelt idő átlaga: 31,6±11,3 hónap. Az egyes csoportok esetszámai a 6. táblázatban találhatók.



2. ábra: A szérum arilészteráz-aktivitás (U/ml) (A) és az arilészteráz-aktivitás/HDL-C arány (U/μmol) (B) különbségei (2. vizsgálat)

Paraoxonáz-aktivitás

Az arilészteráz-aktivitással ellentétben a paraoxonáz-aktivitás (PON) és a PON/HDL-C arány nem függött szignifikánsan a veseelégtelenség és a vesetranszplantáció jelenlététől (sem normál, sem alacsony HDL-C esetén) **(3A és B. ábra, 5. táblázat)**. Nem volt szignifikáns különbség az alacsony és normál HDL-C csoportok paraoxonáz-aktivitásában **(3A. ábra, 5. táblázat)**; viszont az alacsony HDL-C KVE betegekben szignifikánsan magasabb KVE paraoxonáz/HDL-C arányt észleltünk, mint normál HDL-C KVE esetén **(3B. ábra, 5. táblázat, $p < 0,05$)**. Nem volt szignifikáns különbség a paraoxonáz-aktivításban az alacsony és a normál HDL-C csoportok között DL és TX esetén sem.



3. ábra: A szérumban paraoxonáz-aktivitás (U/ml) (A) és a paraoxonáz-aktivitás/HDL-C arány (U/ μ mol) (B) különbségei (2. vizsgálat)

Fenotípus-megoszlás

A fenotípusok megoszlása nem különbözött szignifikáns mértékben a betegcsoportok között (6. táblázat).

6. táblázat: A PON1 fenotípus-megoszlása és az allélfrekvencia a teljes vizsgált populációban, valamint a krónikus veseelégtelenségben szenvedő (KVE), a dyslipidaemiás (DL), és a vesetranszplantált (TX) csoportban (2. vizsgálat)

HDL-C			AA	AB	BB	Összesen	A	B	Összesen
Alacsony	DL	esetszám	26	15	1	42	67	17	84
		arány(%)	62	36	2		80	20	
	KVE	esetszám	41	22	6	69	104	34	138
		arány(%)	59	32	9		75	25	
	TX	esetszám	11	5	0	16	27	5	32
		arány(%)	69	31	0		75	25	
Normál	DL	esetszám	14	3	2	19	31	7	38
		arány(%)	74	16	11		82	18	
	KVE	esetszám	30	17	0	47	77	17	94
		arány	64	36	0		82	18	
	TX	esetszám	17	19	1	37	53	21	74
		arány(%)	46	51	3		72	28	

Lipidparaméterek

Normál HDL-C betegekben az LDL-C és az összkoleszterin szignifikáns korrelációt mutatott a veseelégtelenség és a vesetranszplantáció jelenlététől ($p < 0,005$), míg alacsony HDL-C esetében a különbség nem volt szignifikáns. A triglicerid szignifikánsan függött a veseelégtelenség és a vesetranszplantáció jelenlététől mind normál ($p < 0,05$), mind alacsony HDL-C ($p < 0,005$) esetén, alacsonyabb TG-értékekkel KVE-ben. Alacsony HDL-C esetén tendenciájában kedvezőtlenebb TG-et észleltünk mindhárom betegcsoportban. Szignifikáns különbség volt az ApoB, és az ApoA1 esetén is, mindkettő esetén a legalacsonyabb értéket KVE-ben észleltük ($p < 0,05$). Az alacsony HDL-C szintű KVE, TX és DL csoportok ApoA1-szintje alacsonyabb volt az azonos betegségben szenvedő normál HDL-C csoportnál (5. táblázat).

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

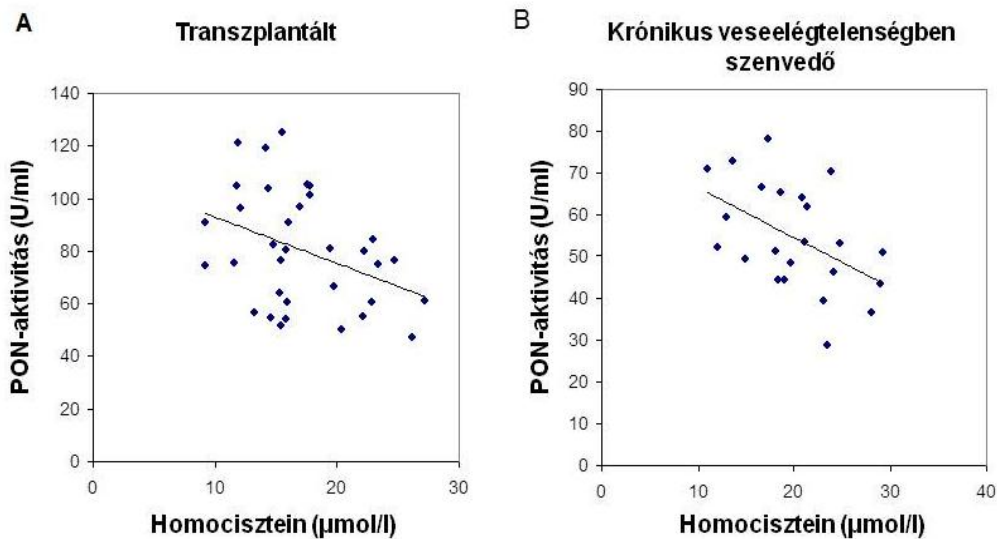
A kapott eredmények és az ezekből számított paraméterek az **7. táblázat**ban találhatók.

7. táblázat: A vizsgált populáció adatai és demográfiai paraméterei (3. vizsgálat)

	K	KVE		TX	
Szám	110	74		171	
Kor (év)	53,2±9,3	61,8±9,2		41,5±9,3	
BMI (kg/m²)	22,5±2,5	23,8±4,3		26,1±4,5	
Összkoleszterin (mmol/l)	4,71±0,89	5,45±1,49	**	6,67±1,72	*
Triglicerid (mmol/l)	1,04±0,42	2,56±1,27	*	2,41±1,01	*
HDL-C (mmol/l)	1,43±0,31	1,06±0,29	*	1,37±0,43	
LDL-C (mmol/l)	2,6±0,6	3,39±1,09	*	4,18±1,2	*
ApoA1 (g/l)	1,82±0,25	1,17±0,26	*	1,53±0,35	*
ApoB (g/l)	1,14±0,29	1,39±0,57	*	1,46±0,48	*
ApoB/ApoA1	0,63	1,19		0,95	
Kreatinin (μmol/l)	81,2±13,1	795±121	*	146±49	*
Húgysav (μmol/l)	149±68	426±89	*	366±117	*
Cisztatin C (mg/l)	1,25±0,15	5,38±1,27	*	2,29±0,61	*
Homocisztein (μmol/l)	10,8±2,45	23,07±4,63	*	15,58±5,06	*
TBARS (μmol/l)	0,06±0,01	0,16±0,07	*	0,12±0,04	*
oxLDL (U/l)	40±9,4	108,6±18,6	*	77,2±13,45	*
Paraoxonáz-aktivitás (U/ml)	188±62	64,6±16,2	**	110,1±23,6	**

*p<0,001; **p<0,01

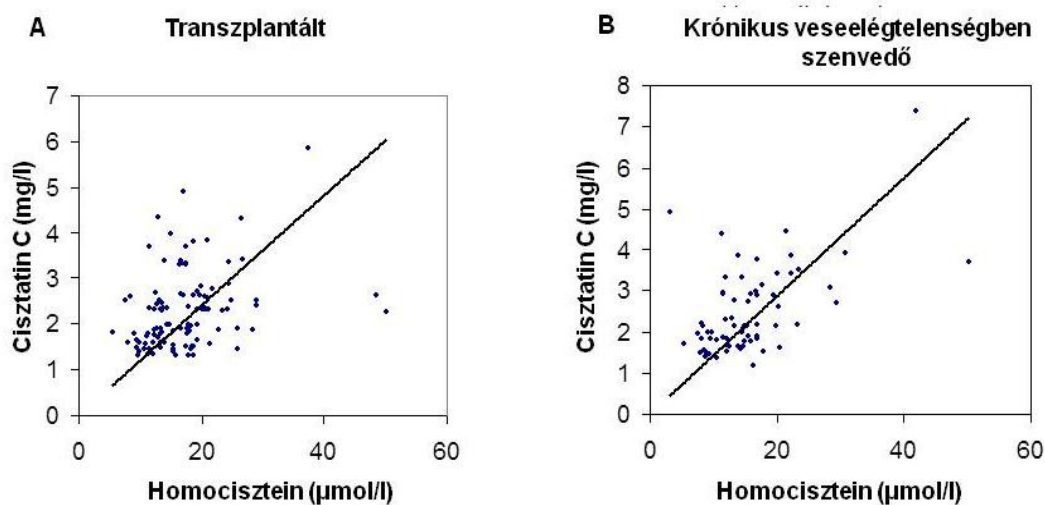
Negatív korrelációt találtunk a szérumban a cisztatin C szintje és a paraoxonáz aktivitás között mind a krónikus veseelégtelenségben szenvedő hemodializált, mind a vesetranszplantált betegekben (KVE: $r=-0,42$, $p<0,05$; TX: $r=-0,34$, $p<0,05$) (**4A. és 4B. ábra**). Negatív korreláció volt a homocisztein és a paraoxonáz aktivitás között mindkét betegcsoportban (KVE: $r=-0,48$, $p<0,05$; TX: $r=-0,37$, $p<0,05$) (**5A. és 5B. ábra**). A cisztatin C pozitív korrelációt mutatott a homociszteinnel mindkét betegcsoport esetén (KVE: $r=0,53$, $p<0,05$; TX: $r=0,32$, $p<0,05$) (**6A. és 6B. ábra**).



4. ábra: A szérumban cisztatin C és a paraoxonáz-aktivitás közötti korreláció transzplantált (A) és krónikus veseelégtelenségben szenvedő (B) betegekben

A: $r=-0,34$; $p<0,05$; B: $r=-0,42$; $p<0,05$

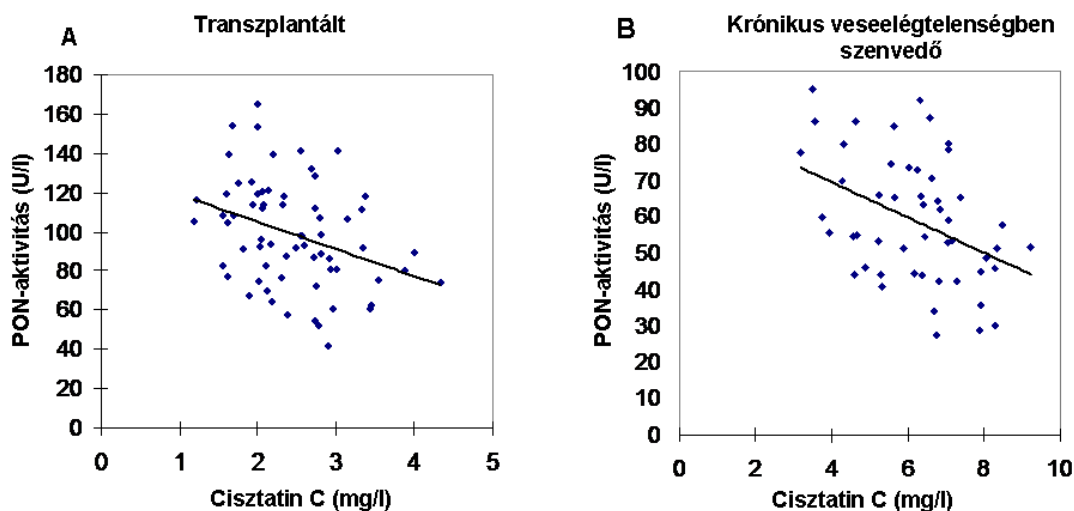
(3. vizsgálat)



5. ábra: A szérumban homocisztein és a paraoxonáz-aktivitás közötti korreláció transzplantált (A) és krónikus veseelégtelenségben szenvedő (B) betegekben

A: $r=-0,37$; $p<0,05$; B: $r=-0,48$; $p<0,05$

(3. vizsgálat)



6. ábra: A szérum homocisztein és a cisztatin C közötti korreláció transzplantált (A) és krónikus veseelégtelenségben szenvedő (B) betegekben

A: $r=0,32$; $p<0,05$; B: $r=0,53$; $p<0,05$

(3. vizsgálat)

A veseelégtelenség súlyosságát tükröző cisztatin C szignifikánsan emelkedett művesekezelt és veseátültetett betegekben a kontrollcsoporthoz viszonyítva. A PON aktivitás szignifikánsan alacsonyabb volt dializáltakban a kontrollokhoz képest, kisebb mértékben a vesetranszplantáltakban is. A homocisztein mindkét betegcsoportban emelkedett volt. A dializált betegek homociszteinje meghaladta mind a kontrollok, mind a transzplantáltak szérumszintjét, míg a transzplantáltakban észlelt homocisztein is szignifikánsan magasabb volt a kontrolloknál (7. táblázat).

A szérum összkoleszterin, TG, LDL-C, ApoB, kreatinin és húgysav szignifikánsan magasabb, a HDL-C és az ApoA1 szignifikánsan alacsonyabb volt veseelégtelenségben a kontrollokhoz képest, a transzplantáltak értékei a másik két csoport között helyezkedtek el. Az oxidatív folyamatokat jellemző TBARS és oxLDL szignifikánsan magasabb volt a veseelégtelenségben szenvedő és a vesetranszplantált betegekben a kontrollokhoz képest (7. táblázat).

Megbeszélés

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

Különböző populációkban a PON1 allélgyakoriságának nagy változatosságát írták le. Egészséges kaukázusi populációban a PON1-192 allélfrekvenciáját korábbi vizsgálatok a következőképp találták: QQ: 51,7%, QR: 40,6%, RR: 7,7%, míg a PON1-55-ét: LL: 49,3%, LM: 38,6%, MM: 12,1% [175].

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

A PON1 polimorfizmusok két leggyakoribb missense-mutációjának szerepe az ateroszklerotikus folyamatokban ellentmondásos. Bebizonyosodott, hogy a PON1 fenotípusa jobb prediktora az érbetegségeknek, mint a PON1-192 vagy a PON1-55 genotípus. Korábbi közlemények arra hívták fel a figyelmet, hogy a PON1 aktivitása és koncentrációja jobban előrejelzi a koronária-betegségeket, mint a PON1 genetikai polimorfizmusai [176]. Más vizsgálatok szerint újabban felfedezett polimorfizmusok a promoter-régióban, mint a -107, a -824 vagy a -162, szintén hatással lehetnek a PON1 génexpressziójára és enzimaktivitására [177]. Emellett számos táplálkozási, környezeti és farmakológiai tényező befolyásolhatja a PON1 aktivitást [8].

- Korábban 7,2%-os eltérést mutattak ki egészséges francia egyének genotípus- és fenotípus-megoszlása között [154], a jelen vizsgálatunkban mindhárom csoportban észlelt nagyfokú genotípus és fenotípus közötti különbség váratlan eredmény.

A technikai problémák oki szerepe kizárható, mivel a genotípus- és fenotípus-meghatározásra általunk alkalmazott technikák standard, széles körben elterjedt módszerek, és a laboratóriumunkban alkalmazott módszereknek megfelelő az intra- és interasszé-variabilitása. Valószínűsíthető, hogy a környezeti faktorok PON1-aktivitásra gyakorolt hatása olyan

jelentős, hogy a fenotípus-meghatározás, amely különböző szubsztrátokkal mért enzimaktivitásokon alapul, nem tükrözi a PON1-192 allélstátuszt.

A hemodialízis csökkent antioxidáns védelemmel és több oxidatív stressz-marker, többek között a lipidperoxidáció során a reaktív oxidatív gyökök fokozott képződésével jár [178]. A PON1 korábbi vizsgálatokban hatékonyan gátolta az LDL oxidatív modifikációját a lipidperoxidok hidrolízise révén [8]. Viszonylag kevés kutatás irányult vesebetegek és transzplantáltak PON1-státusza felé. Megjegyzendő, hogy a minta méretét, a kiválasztási szempontokat, életkort, etnikai megoszlást és a környezeti háttérrel tekintve is különbségek voltak. Hasselwander és mtsai [69] kimutatták, hogy a PON1 paraoxonáz- és arilészteráz-aktivitása szignifikánsan csökkent KVE-ben.

- Nem találtunk különbséget a PON/HDL- és az Aryl/HDL-arányokban a dialízisprogramban részt vevő betegek és a kontrollcsoport között, sem a PON1 fenotípus-megoszlásban [69].

Korábbi vizsgálatunkban nem csak a PON-aktivitás, hanem a PON1/HDL-arány is szignifikánsan alacsonyabbnak bizonyult KVE-ben, míg a fenotípus-megoszlás nem különbözött az egészségesekétől [108]. Egyesek [141] hasonló eredményekről számoltak be, míg mások [144] szignifikánsan alacsonyabb PON-, só-stimulált PON- és arilészteráz-aktivitást, valamint a B-allél gyakoribb előfordulását észlelték hemodializáltakban. Egy következő vizsgálatban ugyanez a kutatócsoport már nem talált különbséget az allélfrekvenciában [77]. Két másik vizsgálat nem talált különbséget a PON1-55 és PON1-192 genotípus-megoszlása között [143,145]. Legtöbbször a PON1 aktivitását mérték fenotípus- vagy genotípus-meghatározás nélkül. A fentiekben közös, hogy a legtöbb kutatócsoport szignifikánsan alacsonyabb PON-aktivitást észlelt vesebetegekben [77,108,141,143-145,179].

- Jelenlegi vizsgálatunkban nem találtunk szignifikáns különbséget a PON- és só-stimulált PON-aktivitás tekintetében egyik betegcsoportnál sem a kontrollhoz képest,

míg az arilészteráz-aktivitás szignifikánsan alacsonyabb volt KVE-ben a kontrollhoz viszonyítva (-22%, $p < 0,001$).

Hangsúlyoznunk kell, hogy a vizsgálatunkban használt, referenciapopulációnak megfelelő kontrollcsoport életkori és nemi megoszlás szerint jellemezte a felnőtt átlagpopulációt.

Korábbi vizsgálatok szoros korrelációt találtak az arilészteráz-aktivitás és a plazma enzimkoncentrációja között [180]. Bár a jelenlegi vizsgálatban a PON1-enzimfehérje plazmakoncentrációját nem mértük, a korábbi eredmények alapján feltételezhető, hogy a KVE-ben is alacsonyabb az enzim koncentrációja. A PON1 enzim szintézisének májbeli regulációja egyelőre ismeretlen. KVE-ben a PON1 szintézise csökkenhet a regulációs mechanizmus változása miatt. További vizsgálatok szükségesek, hogy felderítsük és jellemezzük a folyamatokat, amelyek csökkent arilészteráz-aktivitáshoz vezetnek vesebetegekben.

A humán paraoxonáz-1 érelmeszesedést gátló szerepe vesetranszplantált betegekben sem tisztázott, a jelenleg rendelkezésünkre álló vizsgálatok adatai gyakran ellentmondóak [169].

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

Ez alapján felmerülhet, hogy a vesetranszplantációt követően fokozott kardiovaszkuláris mortalitást a PON1-státusztól független tényezők idézik elő. Más, korábban felvetődött faktorok, mint a folyamatos immunszuppresszív kezelés és a poszttranszplantációs dyslipidaemia, melyek jelenlegi vizsgálatunkban is megfigyelhetőek voltak, szintén felelősek lehetnek a vesetranszplantált betegek fokozott ateroszklerotikus rizikójáért. A közelmúltban emelkedő renális PON-aktivitásról számoltak be patkányokban a korai ciklofoszfamid-indukált vesekárosodás korai jeleként, amely megmagyarázhatja a transzplantált betegek relatíve magasabb PON-aktivitását [181].

Összefoglalásként elmondhatjuk, hogy az összes vizsgált csoportban észlelhető genotípusok és fenotípusok közötti különbség kiemeli a megfelelő értelmezés fontosságát. Egy másik munkacsoport eredményei alapján a PON1 fenotípus fő meghatározó tényezőinek a PON1-192, PON1-107 és PON1-55 genotípus, az alkoholfogyasztás, a dohányzás és a HDL-szint bizonyultak. Véleményük szerint a genetikai markerek szerepe jelentősebb volt a PON1-fenotípus létrehozásában, mint az életmódbeli tényezőké [182].

Jelenlegi vizsgálatunkban a referencia-populáció nem kizárólag egészséges egyedekből állt. Számos PON1-fenotípust módosító faktor, mint a dyslipidaemia, az alkoholfogyasztás és a dohányzás, szintén jelen volt a kontrollcsoportunkban. A krónikus veseelégtelenségben szenvedő és vesetranszplantált csoportokban az alapbetegség következtében létrejövő metabolikus változások valószínűleg azonos genetikai háttér esetén is eltérő fenotípus-megoszlást eredményezhetnek. Ezek a tényezők hozzájárulhatnak a genotípusok és fenotípusok között észlelhető különbségekhez.

A meghatározó tényezők azonosítására és szerepük értékelésére további nagy esetszámú, jól megtervezett, multicentrikus vizsgálatok szükségesek, amelyekben a PON1 aktivitását, fenotípusát egyidejűleg értékelik. A jövőben végzett klinikai vizsgálatok során genotípus- és fenotípus-meghatározás is szükséges.

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

Azon megfigyelések alapján, hogy a PON1 aktivitása a vesebetegség súlyosbodásával egyre csökken [183], felmerült, hogy az alacsony HDL és ApoA1 okozza a PON1 mennyiségének és paraoxonáz-aktivitásának csökkenését krónikus veseelégtelenségben [184]. A csökkent antioxidáns aktivitás felelős a fokozott LDL-oxidációért és lipidperoxidációért, amely hozzájárulhat a KVE-ben észlelt korai ateroszklerózishoz.

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

A vesebetegekben csökkent enzimaktivitás lehetséges magyarázata lehet a kedvezőtlen urémiás környezet az urémiás toxinok retenciója miatt, a glikációs végtermékek (AGEs), szabadgyökök és módosított peptidek fokozott jelenléte, valamint a megnövekedett fehérje-homociszteinizáció [185-187]. Mivel az oxidált lipidek és a homocisztein-tiolakton inaktíválhatja a PON1-et [188], az oxidatív folyamatok hatására a szérum paraoxonáz-aktivitása és a HDL antioxidáns aktivitása vesebetegségben csökken.

- Jelen tanulmányunkban az enzim paraoxonáz aktivitása nem függött szignifikánsan a veseelégtelenség vagy transzplantáció meglététől dyslipidaemiás kontrollhoz viszonyítva, ami arra utal, hogy a csökkent mennyiségű enzimfehérje ellenére az antioxidáns válasz nem volt jelentősen alacsonyabb a dyslipidaemiás betegekhez viszonyítva.
- Az alacsony HDL-C vesebetegekben a normál HDL-C KVE-hez képest észlelt csökkent paraoxonáz aktivitás HDL-C-re korrigálva már jelentősen magasabbnak bizonyult, ami arra utalhat, hogy veseelégtelenségben a HDL emelése segítheti az antioxidáns védelmet.
- Az apolipoproteinek mennyiségi változása lipoprotein-részecskék strukturális különbségeire utalhat a veseelégtelen, a veseátültetett, illetve a dyslipidaemiás

csoportok között, melynek hátterében a csökkent fehérjeszintézis és a megváltozott metabolizmus állhat.

Korábbi vizsgálatok alapján a szérum PON1-aktivitása szignifikánsan csökken urémiás betegekben, és a HDL-szubfrakciók megváltozott aránya jelentősen befolyásolhatja a csökkent PON1-aktivitást [144], mivel az enzim koncentrációja magasabb a HDL3-ban, mint a HDL2-ben [79]. A dyslipidaemiához képest KVE-ben alacsonyabb összkoleszterin-érték szintén magasabb PON/HDL-C arányhoz vezethet. Az adatok alternatív antioxidáns útvonalakra utalnak (pl. lecitin-koleszterol aciltranszferáz), amelyek az alacsony HDL esetén fokozott mértékben hozzájárulhatnak a prooxidánsok inaktivációjához.

Korábbi vizsgálatok azt is felvetették, hogy a csökkent PON-aktivitás ellenére a HDL azon képessége, hogy az izolált LDL-t a gyengébb oxidáns hatásoktól megvédje, nem feltétlenül csökken kóros mértékben dializált betegekben [187], míg mások egyértelműen károsodottnak találták [70].

Jelenlegi vizsgálatunk értékét behatárolják a betegcsoportok immunszuppresszív kezelésében, életkorában és BMI-jében észlelt különbségek.

- Egy korábbi vizsgálatban a B allél előfordulását gyakoribbnak találták veseelégtelenségben [77], míg jelen vizsgálatunkban több más korábbi közléshez hasonlóan nem volt szignifikáns különbség a betegcsoportok között a fenotípus-megoszlás tekintetében.

Több kutatócsoport hasonlított össze vesebetegeket egészséges kontrollokkal [69-70,77-78,108,141,143-145,179,189], de csak kutatócsoportunk alkalmazott dyslipidaemiás „kontrollt” [190]. Jelenlegi vizsgálatunkban a PON1 paraoxonáz aktivitása nem volt szignifikánsan alacsonyabb, mivel alacsony HDL-C-szintű primer dyslipidaemiás betegeket vizsgáltunk „kontrollcsoport”-ként.

Új eredmény az alacsony HDL-C-szintű vesebetegekben a dyslipidaemiásokhoz képest csökkent arilészteráz-aktivitás. Több korábbi vizsgálat észlelt aktivitáscsökkenést egészségesekhez viszonyítva, de ez az első alkalom, hogy dyslipidaemiás „kontrollcsoport”-ot használtunk. HDL-C-re korrigálva az eredmények a korábbi vizsgálatokban nem voltak egybehangzóak. Jelen vizsgálatunkban az alacsonyabb arilészteráz-aktivitás HDL-C-re korrigálva is szignifikáns maradt.

Jelenlegi vizsgálatunkban nem találtunk szignifikáns különbséget a PON1 paraoxonáz aktivitásában a krónikus veseelégtelenségben szenvedő és a primer dyslipidaemiás betegcsoportok között, így ezzel nem magyarázhatjuk a dializált betegekben észlelhető, még a primer dyslipidaemiához képest is fokozott kardiovaszkuláris morbiditást. Ezek alapján úgy véljük, hogy a magasabb CRP, a kóros lipidprofil, a kedvezőtlen HDL- és LDL-szubpopuláció-megoszlás, valamint az urémiában és vesetranszplantációt követően megnövekedett oxidatív stressz mind hozzájárulhat a vesebetegek magas kardiovaszkuláris rizikójához [191].

A hemodialízis-programban részt vevő betegekben jelentősen megemelkedhet a szérumban található homocisztein mennyisége, míg a PON1 enzimfehérjéről a közelmúltban kimutatták, hogy tiolaktonáz-aktivitással is rendelkezik. Így a dializált betegekben csökkent PON1-aktivitás miatt fokozódhat a fehérjék homociszteinizációja, amely felgyorsíthatja az aterogenesis folyamatát a közel normál homociszteinszintű dyslipidaemiás betegekhez képest [192-193].

A PON1 aktivitásának megtartása vagy emelése lassíthatja a vesebetegség progresszióját, valamint a vesebetegség szövödményeinek kialakulását veseelégtelenségben [194]. Kiemelkedően fontosak lennének a vesebetegek számára azok a terápiás beavatkozások, melyek visszaállíthatják a vesebetegekben károsodott HDL élettani szintjét és funkcióját, növelve a PON1 aktivitását, javítva a HDL-szubpopulációk arányát, emellett növelve az LDL

méretét és csökkentve a trigliceridben gazdag lipoprotein-maradékok mennyiségét. Rendelkezésre állnak a nem gyógyszeres lehetőségek, mint a megfelelő táplálkozás, a dohányzás elhagyása, valamint gyógyszeres kezelések, mint a sztatinok, a fibrátok, az ezetimib és a nikotinsav, hogy a PON1 aktivitását és a dyslipidaemiát kedvezően befolyásoljuk művesekezelt és transzplantált betegekben [84,94,104,167].

Vesebetegekben tehát az alapbetegségből adódó különbségek, a lipidprofil mennyiségi és minőségi változásai, potenciális interakciók, valamint a megváltozott lipoprotein-metabolizmus indokolja a primer dyslipidaemiához képest különböző terápiás megközelítést.

Kiemelkedően fontos lehet olyan, nagyon nagy rizikójú alcsoportok definiálása, ahol a várható terápiás haszon előre láthatólag meghaladja a mellékhatások kockázatát. A fentiek tükrében a jelenlegi vizsgálatunk felhívja a figyelmet arra, hogy alacsony HDL-C-szintű vesebetegekben az aterogén dyslipidaemiát befolyásoló kezelés különösen fontos lehet, ugyanakkor indokolt a lipidcsökkentő gyógyszerek hatásait a vesebetegek különböző alcsoportjaiban nagy betegszámú vizsgálatokkal tisztázni, hogy meghatározzuk ezekben a betegekben a kezelés várható hasznát és kockázatait.

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

A glomeruláris filtrációs ráta endogén, kis molekulatömegű markeréről, a cisztatin C-ről az utóbbi időben bebizonyosodott, hogy dózisdependens módon összefüggést mutat a kardiovaszkuláris morbiditással egészséges idős populációban, valamint bizonyítottan ateroszklerózisban szenvedő betegekben is, mely összefüggés már a veseelégtelenség igen korai stádiumában megjelenhet [195]. A krónikus veseelégtelenségben, sőt a vesetranszplantációt követően is észlelhető emelkedett cisztatin C összefüggést mutat a vesefunkció beszűkülésének mértékével, amely a homocisztein csökkent renális eliminációjához is vezet.

- Jelen vizsgálatunkban is a korábbi eredményeknek megfelelő, emelkedett cisztatin C-t és homociszteint találtunk veseelégtelenségben, míg vesetranszplantáltakban kisebb mértékű emelkedés volt észlelhető a kontrollhoz képest.
- Más vizsgálatokhoz hasonlóan negatív korrelációt találtunk a cisztatin C és a homocisztein szérumszintje között [163-164].

A homocisztein lebontása szintén zavart szenved, mivel a lebontóenzimeket károsítja a fokozott oxidatív stressz és a homocisztein reaktív lebomlási termékei. Krónikus veseelégtelenségben a folsav és a B-vitaminok, köztük a homocisztein metabolizmusában kofaktorként közreműködő B12- és B6-vitamin csökkenését írták le [196].

Egyes vizsgálatok fordított összefüggést találtak a homocisztein és a PON1 arilészteráz aktivitása közt [197], míg mások nem találtak szignifikáns korrelációt a homociszteinnel sem a PON1 aktivitása, sem az enzimfehérje koncentrációja esetén, bár a tendencia hasonló volt [198]. Felvetették, hogy a homocisztein PON1-aktivitásra gyakorolt negatív hatása csak kóros mértékben emelkedett homociszteinszint esetén érvényesülhet.

- Jelenlegi vizsgálatunkban negatív korrelációt találtunk a PON1 paraoxonáz aktivitása és a homocisztein koncentrációja között. Ez az eredmény alátámasztja a korábbi megfigyeléseket.

Más kutatók a PON1 homocisztein-tiolaktonáz aktivitását is vizsgálták. Eredményeik alapján az enzim antioxidáns aktivitásának független meghatározója az összhomocisztein, az életkor és az összkoleszterin, de a HDL nem. Szoros korrelációt találtak a PON1 homocisztein-tiolaktont és paraoxont hidrolizáló aktivitása között [199]. A humán paraoxonáz-1 homociszteinilációja következtében csökkent enzimaktivitása a HDL-en található többi fehérje (maga a PON1 is) fokozott érzékenységéhez vezet az egyéb oxidatív folyamatokkal és a további homociszteinilációval szemben [200]. Az oxidatív modifikáció megváltoztathatja a PON1 enzimfehérje konformációját, amely csökkent laktonáz aktivitáshoz, így az endogén

laktonok, mint a homocisztein-tiolakton felhalmozódásához vezethet. A homocisztein-tiolakton a krónikus veseelégtelenségben megnövekedett mennyiségű LDL-lel homocisztein-tiolakton-LDL-aggregátumokat képez, amelyek az ateroszklerotikus plakkokban megváltoztatják a makrofágok fagocitotikus aktivitását, és habos sejtek képződését segítik elő [201]. Az LDL-részecskék homociszteinilációja megnöveli azok érzékenységét az oxidációval szemben, elősegíti a homociszteinil-lizin ellenes antitestek képződését, és fokozza a részecskék felvételét a makrofágok fagocitózisa által [192].

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

A korrelációt részben a veseelégtelenségben észlelhető fokozott oxidatív stressz magyarázhatja, mely a PON1 lebomlásához és csökkent aktivitásához, valamint a HDL részecskék oxidatív modifikációjához és felgyorsult metabolizmusához vezet. A beszűkült vesefunkcióhoz hiperhomociszteinémia is társul. A romló vesefunkció miatt növekvő cisztatin-C csak részben tudja gátolni a felgyorsult ateroszklerotikus folyamatokat, melyek következménye a HDL struktúrfehérjének és a PON1 enzimfehérjének a homociszteinilációja, valamint csökkent paraoxonáz-aktivitás.

- A dializált betegekben észlelhető emelkedett TBARS és oxLDL fokozott oxidatív károsodásra utal, amelyet a prooxidáns homocisztein nagy koncentrációja, az antioxidáns PON1 csökkent aktivitása és a romló vesefunkció miatt emelkedett cisztatin C jellemez. A vesetranszplantáció csak részben képes helyreállítani az előbb említett paraméterek aterogén profilját.

A kedvezőtlen állapot létrejöttében az alapbetegségen kívül a dialízis-kezelés és az aterogén lipidprofil is szerepet játszhat. A lipidparaméterek káros változásait a veseelégtelenségen és a gyógyszermellékhatásokon kívül egyéb, egyelőre még ismeretlen faktorok is okozhatják [20]. Eredményeink összhangban vannak az irodalomban leírt korábbi megfigyelésekkel.

Hemodializált és vesetranszplantált betegekben a PON1 paraoxonáz aktivitása és a szérumban a ciszatin C szintje közötti összefüggés új eredmény.

Új aspektust jelent azon megfigyelésünk, hogy vesebetegekben a ciszatin C nem csak a homociszteinnek, hanem az antioxidáns státusznak is jó prediktora lehet.

- Ezért a jövőben a szérumban a ciszatin C meghatározás javasolható hemodializált és vesetranszplantált betegeknek.

További vizsgálatokra van szükség a ciszatin C aterogenesisben betöltött szerepének tisztázására.

Legfontosabbnak tartott új eredményeink:

- Bár a PON1 genotípus- és fenotípus-megoszlásában nem volt különbség, a vártnál nagyobb eltérést találtunk a PON1 genotípusa és fenotípusa között.
- KVE-ben az anyagcsere-változások eredményként a PON1 a ciszatin C-vel negatív korrelációt mutatott.
- DL-ban a PON1 paraoxonáz aktivitása hasonlóan csökkent, míg a PON1 arilészteráz aktivitásának csökkenése KVE-ben kifejezettebb volt. Ez nem magyarázható a csökkent HDL-C-nel.

Összefoglalás

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

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

Irodalomjegyzék

1. Foley RN, Parfrey PS, Sarnak MJ: Clinical epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. *Am J Kidney Dis* 1998;32:S112-S119.
2. Tuzcu EM, Kapadia SR, Tutar E, Ziada KM, Hobbs RE, McCarthy PM, Young JB, Nissen SE: High prevalence of coronary atherosclerosis in asymptomatic teenagers and young adults: evidence from intravascular ultrasound. *Circulation* 2001;103:2705-2710.
3. Springer TA: Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm. *Cell* 1994;76:301-314.
4. Ross R: Atherosclerosis – an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340:115-126.
5. Assmann G, Schulte H, von EA: Hypertriglyceridemia and elevated lipoprotein(a) are risk factors for major coronary events in middle-aged men. *Am J Cardiol* 1996;77:1179-1184.
6. Kleemann R, Kooistra T: HMG-CoA reductase inhibitors: effects on chronic subacute inflammation and onset of atherosclerosis induced by dietary cholesterol. *Curr Drug Targets Cardiovasc Haematol Disord* 2005;5:441-453.
7. Gordon DJ, Probstfield JL, Garrison RJ, Neaton JD, Castelli WP, Knoke JD, Jacobs DR, Bangdiwala S, Tyroler HA: High-density lipoprotein cholesterol and cardiovascular disease. Four prospective American studies. *Circulation* 1989;79:8-15.
8. Mackness B, Durrington PN, Mackness MI: Human serum paraoxonase. *General Pharmacology* 1998;31:329-336.
9. Wilson PW, Abbott RD, Castelli WP: High density lipoprotein cholesterol and mortality. The Framingham Heart Study. *Arteriosclerosis* 1988;8:737-741.
10. Berliner JA, Heinecke JW: The role of oxidized lipoproteins in atherogenesis. *Free Radical Biology and Medicine* 1996;20:707-727.

11. Werb Z, Banda MJ, Jones PA: Degradation of connective tissue matrices by macrophages. I. Proteolysis of elastin, glycoproteins, and collagen by proteinases isolated from macrophages. *J Exp Med* 1980;152:1340-1357.
12. Libby P: Inflammation in atherosclerosis. *Nature* 2002;420:868-874.
13. Wasserman EJ, Shipley NM: Atherothrombosis in acute coronary syndromes: mechanisms, markers, and mediators of vulnerability. *Mt Sinai J Med* 2006;73:431-439.
14. Burke AP, Farb A, Malcom GT, Liang YH, Smialek J, Virmani R: Coronary risk factors and plaque morphology in men with coronary disease who died suddenly. *N Engl J Med* 1997;336:1276-1282.
15. Nilsson J, Fredrikson GN: Atherosclerosis. *Autoimmunity* 2004;37:351-355.
16. Saini HK, Xu YJ, Arneja AS, Tappia PS, Dhalla NS: Pharmacological basis of different targets for the treatment of atherosclerosis. *J Cell Mol Med* 2005;9:818-839.
17. Excerpts from the United States Renal Data System. 1998 Annual Data Report. *Am J Kidney Dis* 1998;32:S1-162.
18. Hung MJ, Yang NI, Wu IW, Cheng CW, Liu PC, Chen SJ, Wu MS, Cherng WJ: Three-dimensional echocardiographic assessment of left ventricular remodeling in predialysis chronic kidney disease patients. *J Nephrol* 2012;25:96-106.
19. Mathur S, Devaraj S, Jialal I: Accelerated atherosclerosis, dyslipidemia, and oxidative stress in end-stage renal disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2002;11:141-147.
20. Prichard SS: Impact of dyslipidemia in end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol* 2003;14:S315-S320.
21. Burst V, Benzing T: Dyslipidemia treatment and cardiovascular disease in the renal patient. *Curr Pharm Des* 2011;17:894-907.
22. Vaziri ND, Navab M, Fogelman AM: HDL metabolism and activity in chronic kidney disease. *Nat Rev Nephrol* 2010;6:287-296.

23. Longenecker JC, Coresh J, Powe NR, Levey AS, Fink NE, Martin A, Klag MJ: Traditional cardiovascular disease risk factors in dialysis patients compared with the general population: the CHOICE Study. *J Am Soc Nephrol* 2002;13:1918-1927.
24. Mátyus J, Nagy J, Kiss I, Reusz Gy: a kardiovaszkuláris kockázat az idült vesebetegség minden stádiumában fokozott, a vesefunkció romlásától és a fehérjevesztés mértékétől függően. *Metabolizmus* 2012;10(Supplementum A):A53-A56.
25. Executive summary of the third report of the national cholesterol education program NCEP expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults. Adult Treatment Panel III. *JAMA* 2001;285:2486-2497.
26. Prichard SS: Major and minor risk factors for cardiovascular disease in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. *Perit Dial Int* 1999;19:S133-S137.
27. Avram MM, Goldwasser P, Burrell DE, Antignani A, Fein PA, Mittman N: The uremic dyslipidemia: a cross-sectional and longitudinal study. *Am J Kidney Dis* 1992;20:324-335.
28. Wanner C, Krane V, Metzger T, Quaschnig T: Lipid changes and statins in chronic renal insufficiency and dialysis. *J Nephrol* 2001;14:S76-S80.
29. Baigent C, Landray MJ, Reith C, Emberson J, Wheeler DC, Tomson C, Wanner C, Krane V, Cass A, Craig J, Neal B, Jiang L, Hooi LS, Levin A, Agodoa L, Gaziano M, Kasiske B, Walker R, Massy ZA, Feldt-Rasmussen B, Krairitichai U, Ophascharoensuk V, Fellström B, Holdaas H, Tesar V, Wiecek A, Grobbee D, de Zeeuw D, Grönhagen-Riska C, Dasgupta T, Lewis D, Herrington W, Mafham M, Majoni W, Wallendszus K, Grimm R, Pedersen T, Tobert J, Armitage J, Baxter A, Bray C, Chen Y, Chen Z, Hill M, Knott C, Parish S, Simpson D, Sleight P, Young A, Collins R: The effects of lowering LDL cholesterol with simvastatin plus ezetimibe in patients with chronic kidney disease

- (Study of Heart and Renal Protection): a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2011;377:2181-2192.
30. Wanner C, Krane V: Lessons learnt from the 4D trial. *Nephrol Ther* 2006;2:3-7.
31. Brufau G, Groen AK, Kuipers F: Reverse cholesterol transport revisited: contribution of biliary versus intestinal cholesterol excretion. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011;31:1726-1733.
32. Gordon T, Castelli WP, Hjortland MC, Kannel WB, Dawber TR: High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease. The Framingham Study. *Am J Med* 1977;62:707-714.
33. Rothblat GH, Phillips MC: High-density lipoprotein heterogeneity and function in reverse cholesterol transport. *Curr Opin Lipidol* 2010;21:229-238.
34. De Backer G: Regional differences in dietary habits, coronary risk factors, and mortality rates in Belgium. Design and methodology. *Nutrition and health: an interuniversity study. Acta Cardiol* 1984;39:285-292.
35. von Eckardstein A, Nofer JR, Assmann G: High density lipoproteins and arteriosclerosis. Role of cholesterol efflux and reverse cholesterol transport. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:13-27.
36. Fielding CJ, Fielding PE: Molecular physiology of reverse cholesterol transport. *J Lipid Res* 1995;36:211-228.
37. Bencharif K, Hoareau L, Murumalla RK, Tarnus E, Tallet F, Clerc RG, Gardes C, Cesari M, Roche R: Effect of apoA-I on cholesterol release and apoE secretion in human mature adipocytes. *Lipids Health Dis* 2010;9:75.
38. Oram JF, Yokoyama S: Apolipoprotein-mediated removal of cellular cholesterol and phospholipids. *J Lipid Res* 1996;37:2473-2491.

39. Ho YK, Brown MS, Goldstein JL: Hydrolysis and excretion of cytoplasmic cholesteryl esters by macrophages: stimulation by high density lipoprotein and other agents. *J Lipid Res* 1980;21:391-398.
40. Windmueller HG, Herbert PN, Levy RI: Biosynthesis of lymph and plasma lipoprotein apoproteins by isolated perfused rat liver and intestine. *J Lipid Res* 1973;14:215-223.
41. Tall AR: Plasma cholesteryl ester transfer protein. *J Lipid Res* 1993;34:1255-1274.
42. Pittman RC, Knecht TP, Rosenbaum MS, Taylor CA: A nonendocytotic mechanism for the selective uptake of high density lipoprotein-associated cholesterol esters. *J Biol Chem* 1987;262:2443-2450.
43. Mackness MI, Arrol S, Abbott C, Durrington PN: Protection of low-density lipoprotein against oxidative modification by high-density lipoprotein associated paraoxonase. *Atherosclerosis* 1993;104:129-135.
44. Navab M, Berliner JA, Watson AD, Hama SY, Territo MC, Lusis AJ, Shih DM, Van Lenten BJ, Frank JS, Demer LL, Edwards PA, Fogelman AM: The Yin and Yang of oxidation in the development of the fatty streak. A review based on the 1994 George Lyman Duff Memorial Lecture. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996;16:831-842.
45. Watson AD, Berliner JA, Hama SY, La Du BN, Faull KF, Fogelman AM, Navab M: Protective effect of high density lipoprotein associated paraoxonase. Inhibition of the biological activity of minimally oxidized low density lipoprotein. *J Clin Invest* 1995;96:2882-2891.
46. Abbott CA, Mackness MI, Kumar S, Boulton AJ, Durrington PN: Serum paraoxonase activity, concentration, and phenotype distribution in diabetes mellitus and its relationship to serum lipids and lipoproteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995;15:1812-1818.

47. Fleisher LN, Tall AR, Witte LD, Miller RW, Cannon PJ: Stimulation of arterial endothelial cell prostacyclin synthesis by high density lipoproteins. *J Biol Chem* 1982;257:6653-6655.
48. Zeiher AM, Schachlinger V, Hohnloser SH, Saubier B, Just H: Coronary atherosclerotic wall thickening and vascular reactivity in humans. Elevated high-density lipoprotein levels ameliorate abnormal vasoconstriction in early atherosclerosis. *Circulation* 1994;89:2525-2532.
49. Deckert V, Persegol L, Viens L, Lizard G, Athias A, Lallemant C, Gambert P, Lagrost L: Inhibitors of arterial relaxation among components of human oxidized low-density lipoproteins. Cholesterol derivatives oxidized in position 7 are potent inhibitors of endothelium-dependent relaxation. *Circulation* 1997;95:723-731.
50. Besler C, Heinrich K, Rohrer L, Doerries C, Riwanto M, Shih DM, Chroni A, Yonekawa K, Stein S, Schaefer N, Mueller M, Akhmedov A, Daniil G, Manes C, Templin C, Wyss C, Maier W, Tanner FC, Matter CM, Corti R, Furlong C, Lusis AJ, von Eckardstein A, Fogelman AM, Lüscher TF, Landmesser U: Mechanisms underlying adverse effects of HDL on eNOS-activating pathways in patients with coronary artery disease. *J Clin Invest* 2011;121:2693-2708.
51. Cockerill GW, Rye KA, Gamble JR, Vadas MA, Barter PJ: High-density lipoproteins inhibit cytokine-induced expression of endothelial cell adhesion molecules. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995;15:1987-1994.
52. Cockerill GW, Saklatvala J, Ridley SH, Yarwood H, Miller NE, Oral B, Nithyanathan S, Taylor G, Haskard DO: High-density lipoproteins differentially modulate cytokine-induced expression of E-selectin and cyclooxygenase-2. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:910-917.

53. De Backer G, De BD, Kornitzer M: Epidemiological aspects of high density lipoprotein cholesterol. *Atherosclerosis* 1998;137:S1-S6.
54. Lerch PG, Spycher MO, Doran JE: Reconstituted high density lipoprotein (rHDL) modulates platelet activity in vitro and ex vivo. *Thromb Haemost* 1998;80:316-320.
55. Nofer JR, Walter M, Kehrel B, Wierwille S, Tepel M, Seedorf U, Assmann G: HDL3-mediated inhibition of thrombin-induced platelet aggregation and fibrinogen binding occurs via decreased production of phosphoinositide-derived second messengers 1,2-diacylglycerol and inositol 1,4,5-tris-phosphate. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:861-869.
56. Hayek T, Masucci-Magoulas L, Jiang X, Walsh A, Rubin E, Breslow JL, Tall AR: Decreased early atherosclerotic lesions in hypertriglyceridemic mice expressing cholesteryl ester transfer protein transgene. *J Clin Invest* 1995;96:2071-2074.
57. Son YS, Zilversmit DB: Increased lipid transfer activities in hyperlipidemic rabbit plasma. *Arteriosclerosis* 1986;6:345-351.
58. Mezdour H, Jones R, Dengremont C, Castro G, Maeda N: Hepatic lipase deficiency increases plasma cholesterol but reduces susceptibility to atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *J Biol Chem* 1997;272:13570-13575.
59. Funke H: Genetic determinants of high density lipoprotein levels. *Curr Opin Lipidol* 1997;8:189-196.
60. Kuivenhoven JA, Pritchard H, Hill J, Frohlich J, Assmann G, Kastelein J: The molecular pathology of lecithin:cholesterol acyltransferase (LCAT) deficiency syndromes. *J Lipid Res* 1997;38:191-205.
61. Hayek T, Azrolan N, Verdery RB, Walsh A, Chajek-Shaul T, Agellon LB, Tall AR, Breslow JL: Hypertriglyceridemia and cholesteryl ester transfer protein interact to

- dramatically alter high density lipoprotein levels, particle sizes, and metabolism. Studies in transgenic mice. *J Clin Invest* 1993;92:1143-1152.
62. Zhong S, Sharp DS, Grove JS, Bruce C, Yano K, Curb JD, Tall AR: Increased coronary heart disease in Japanese-American men with mutation in the cholesteryl ester transfer protein gene despite increased HDL levels. *J Clin Invest* 1996;97:2917-2923.
63. Brousseau ME, Santamarina-Fojo S, Vaisman BL, Applebaum-Bowden D, Berard AM, Talley GD, Brewer HB, Jr, Hoeg JM: Overexpression of human lecithin:cholesterol acyltransferase in cholesterol-fed rabbits, LDL metabolism and HDL metabolism are affected in a gene dose-dependent manner. *J Lipid Res* 1997;38:2537-2547.
64. Heiss G, Johnson NJ, Reiland S, Davis CE, Tyroler HA: The epidemiology of plasma high-density lipoprotein cholesterol levels. The Lipid Research Clinics Program Prevalence Study. Summary. *Circulation* 1980;62:IV116-IV136.
65. Schaefer EJ, Santos RD, Asztalos BF: Marked HDL deficiency and premature coronary heart disease. *Curr Opin Lipidol* 2010;21:289-297.
66. Amann K, Tyralla K, Gross ML, Eifert T, Adamczak M, Ritz E: Special characteristics of atherosclerosis in chronic renal failure. *Clin Nephrol* 2003;60:S13-S21.
67. Kaysen GA: Hyperlipidemia in chronic kidney disease. *Int J Artif Organs* 2007;30:987-992.
68. Okubo K, Ikewaki K, Sakai S, Tada N, Kawaguchi Y, Mochizuki S: Abnormal HDL apolipoprotein A-I and A-II kinetics in hemodialysis patients: a stable isotope study. *J Am Soc Nephrol* 2004;15:1008-1015.
69. Hasselwander O, McMaster D, Damian G, Fogarty A, Maxwell DP, Nicholls P, Young IS: Serum Paraoxonase and Platelet-Activating Factor Acetylhydrolase in Chronic Renal Failure. *Clinical Chemistry* 1998;44:179–181.

70. Morena M, Cristol JP, Dantoine T, Carbonneau MA, Descomps B, Canaud B: Protective effects of high-density lipoprotein against oxidative stress are impaired in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2000;15:389-395.
71. Barn K, Laftavi M, Pierce D, Ying C, Boden WE, Pankewycz O: Low levels of high-density lipoprotein cholesterol: an independent risk factor for late adverse cardiovascular events in renal transplant recipients. *Transpl Int* 2010;23:574-579.
72. Zumurtdal A, Baltali M, Micozkadioglu H, Torun D, Sezer S, Ozdemir FN, Haberal M: Determinants of coronary artery disease in nondiabetic hemodialysis patients: a matched case-control study. *Ren Fail* 2007;29:67-71.
73. Reddy ST, Devarajan A, Bourquard N, Shih D, Fogelman AM: Is it just paraoxonase 1 or are other members of the paraoxonase gene family implicated in atherosclerosis? *Curr Opin Lipidol* 2008;19:405-408.
74. Kelso GJ, Stuart WD, Richter RJ, Furlong CE, Jordan-Starck TC, Harmony JA: Apolipoprotein J is associated with paraoxonase in human plasma. *Biochemistry* 1994;33:832-839.
75. Mackness MI, Mackness B, Durrington PN, Fogelman AM, Berliner J, Lusis AJ, Navab M, Shih D, Fonarow GC: Paraoxonase and coronary heart disease. *Curr Opin Lipidol* 1998;9:319-324.
76. Bergmeier C, Siekmeier R, Gross W: Distribution spectrum of paraoxonase activity in HDL fractions. *Clin Chem* 2004;50:2309-2315.
77. Schiavon R, Battaglia P, De FE, Fasolin A, Biasioli S, Targa L, Guidi G: HDL3-related decreased serum paraoxonase (PON) activity in uremic patients: comparison with the PON1 allele polymorphism. *Clin Chim Acta* 2002;324:39-44.

78. Dantoine TF, Debord J, Charmes JP, Merle L, Marquet P, Lachatre G, Leroux-Robert C: Decrease of serum paraoxonase activity in chronic renal failure. *J Am Soc Nephrol* 1998;9:2082–2088.
79. Mackness MI, Arrol S, Durrington PN: Paraoxonase prevents accumulation of lipoperoxides in low-density lipoprotein. *FEBS Letters* 1991;286:152-154.
80. Mackness MI, Durrington PN: HDL, its enzymes and its potential to influence lipid peroxidation. *Atherosclerosis* 1995;115:243–253.
81. Billecke S, Draganov D, Counsell R, Stetson P, Watson C, Hsu C, La Du BN: Human serum paraoxonase (PON1) isozymes Q and R hydrolyze lactones and cyclic carbonate esters. *Drug Metab Dispos* 2000;28:1335–1342.
82. Jakubowski H: Calcium-dependent human serum homocisztein thiolactone hydrolase. A protective mechanism against protein N-homocysteinylation. *J Biol Chem* 2000;275:3957–3962.
83. Draganov DI, La Du BN: Pharmacogenetics of paraoxonases, a brief review. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2004;369:78-88.
84. Jarvik GP, Tsai NT, McKinsty LA, Wani R, Brophy VH, Richter RJ, Schellenberg GD, Heagerty PJ, Hatsukami TS, Furlong CE: Vitamin C and E intake is associated with increased paraoxonase activity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22:1329-1333.
85. Kleemola P, Freese R, Jauhiainen M, Pahlman R, Alfthan G, Mutanen M: Dietary determinants of serum paraoxonase activity in healthy humans. *Atherosclerosis* 2002;160:425-432.
86. Aviram M, Dornfeld L, Rosenblat M, Volkova N, Kaplan M, Coleman R, Hayek T, Presser D, Fuhrman B: Pomegranate juice consumption reduces oxidative stress, atherogenic modifications to LDL, and platelet aggregation, studies in humans and in atherosclerotic apolipoprotein E-deficient mice. *Am J Clin Nutr* 2000;71:1062-1076.

87. Mackness MI, Harty D, Bhatnagar D, Winocour PH, Arrol S, Ishola M, Durrington PN: Serum paraoxonase activity in familial hypercholesterolaemia and insulin-dependent diabetes mellitus. *Atherosclerosis* 1991;86:193-199.
88. Akcay AB, Camsarı A, Ozcan T, Cicek D, Akkus N, Seyis S, Cimen B, Celebi B, Döven O, Cin G: The relationship between paraoxonase-1 activity and coronary artery disease in patients with metabolic syndrome. *Turk Kardiyol Dern Ars* 2011;39:371-377.
89. Van Lenten BJ, Wagner AC, Navab M, Fogelman AM: Oxidized phospholipids induce changes in hepatic paraoxonase and ApoJ but not monocyte chemoattractant protein-1 via interleukin-6. *J Biol Chem* 2001;276:1923-1929.
90. Mackness M, Bouiller A, Hennuyer N, Mackness B, Hall M, Tailleux A, Duriez P, Delfly B, Durrington P, Fruchart JC: Paraoxonase activity is reduced by a pro-atherosclerotic diet in rabbits. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2000;269:232-236.
91. Shih DM, Gu L, Hama S, Xia YR, Navab M, Fogelman AM, Lusis AJ: Genetic-dietary regulation of serum paraoxonase expression and its role in atherogenesis in a mouse model. *J Clin Invest* 1996;97:1630-1639.
92. Kudchodkar BJ, Lacko AG, Dory L, Fungwe TV: Dietary fat modulates serum paraoxonase 1 activity in rats. *J Nutr* 2000;130:2427-2433.
93. van der Gaag MS, van TA, Scheek LM, James RW, Urgert R, Schaafsma G, Hendriks HF: Daily moderate alcohol consumption increases serum paraoxonase activity; a diet-controlled, randomised intervention study in middle-aged men. *Atherosclerosis* 1999;147:405-410.
94. James RW, Leviev I, Righetti A: Smoking is associated with reduced serum paraoxonase activity and concentration in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2000;101:2252-2257.

95. Sozmen EY, Mackness B, Sozmen B, Durrington P, Girgin FK, Aslan L, Mackness M: Effect of organophosphate intoxication on human serum paraoxonase. *Hum Exp Toxicol* 2002;21:247-252.
96. Costa LG, Vitalone A, Cole TB, Furlong CE: Modulation of paraoxonase PON1 activity. *Biochem Pharmacol* 2005;69:541-550.
97. Deakin SP, James RW: Genetic and environmental factors modulating serum concentrations and activities of the antioxidant enzyme paraoxonase-1. *Clin Sci Lond* 2004;107:435-447.
98. Senti M, Tomas M, Vila J, Marrugat J, Elosua R, Sala J, Masia R: Relationship of age-related myocardial infarction risk and Gln/Arg 192 variants of the human paraoxonase1 gene: the REGICOR study. *Atherosclerosis* 2001;156:443-449.
99. Turk R, Juretic D, Geres D, Turk N, Rekic B, Simeon-Rudolf V, Robic M, Svetina A: Serum paraoxonase activity in dairy cows during pregnancy. *Res Vet Sci* 2005;79:15-18.
100. Weitman SD, Vodcnik MJ, Lech JJ: Influence of pregnancy on parathion toxicity and disposition. *Toxicol Appl Pharmacol* 1983;71:215-224.
101. Feingold KR, Memon RA, Moser AH, Grunfeld C: Paraoxonase activity in the serum and hepatic mRNA levels decrease during the acute phase response. *Atherosclerosis* 1998;139:307-315.
102. Kumon Y, Nakauchi Y, Suehiro T, Shiinoki T, Tanimoto N, Inoue M, Nakamura T, Hashimoto K, Sipe JD: Proinflammatory cytokines, but not acute phase serum amyloid A or C-reactive protein, downregulate paraoxonase 1 (PON1) expression by HepG2 cells. *Amyloid* 2002;9:160-164.

103. Kumon Y, Suehiro T, Ikeda Y, Hashimoto K: Human paraoxonase-1 gene expression by HepG2 cells is downregulated by interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha, but is upregulated by interleukin-6. *Life Sci* 2003;73:2807-2815.
104. Aviram M, Rosenblat M, Bisgaier CL, Newton RS: Atorvastatin and gemfibrozil metabolites, but not the parent drugs, are potent antioxidants against lipoprotein oxidation. *Atherosclerosis* 1998;138:271-280.
105. Tomas M, Senti M, Garcia-Faria F, Vila J, Torrents A, Covas M, Marrugat J: Effect of simvastatin therapy on paraoxonase activity and related lipoproteins in familial hypercholesterolemic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:2113-2119.
106. Gouedard C, Koum-Besson N, Barouki R, Morel Y: Opposite regulation of the human paraoxonase-1 gene (PON-1) by fenofibrate and statins. *Mol Pharmacol* 2003;63:945-956.
107. Deakin S, Leviev I, Brulhart-Meynet MC, James RW: Paraoxonase-1 promoter haplotypes and serum paraoxonase: a predominant role for polymorphic position -107, implicating the Sp1 transcription factor. *Biochem J* 2003;372:643-649.
108. Paragh G, Asztalos L, Seres I, Balogh Z, Locsey L, Karpati I, Matyus J, Katona E, Harangi M, Kakuk G: Serum paraoxonase activity changes in uremic and kidney-transplanted patients. *Nephron* 1999;83:126-131.
109. Durrington PN, Mackness B, Mackness MI: Paraoxonase and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:473-480.
110. Boemi M, Leviev I, Sirolla C, Pieri C, Marra M, James RW: Serum paraoxonase is reduced in type 1 diabetic patients compared to non-diabetic, first degree relatives; influence on the ability of HDL to protect LDL from oxidation. *Atherosclerosis* 2001;155:229-235.

111. Hasselwander O, Savage DA, McMaster D, Loughrey CM, McNamee PT, Middleton D, Nicholls DP, Maxwell AP, Young IS: Paraoxonase polymorphisms are not associated with cardiovascular risk in renal transplant recipients. *Kidney Int* 1999;56:289-298.
112. Mackness B, Durrington PN, Abuashia B, Boulton AJ, Mackness MI: Low paraoxonase activity in type II diabetes mellitus complicated by retinopathy. *Clin Sci Lond* 2000;98:355-363.
113. Mackness B, Durrington PN, Boulton AJ, Hine D, Mackness MI: Serum paraoxonase activity in patients with type 1 diabetes compared to healthy controls. *Eur J Clin Invest* 2002;32:259-264.
114. Mackness B, Mackness MI, Arrol S, Turkie W, Julier K, Abuasha B, Miller JE, Boulton AJM, Durrington PN: Serum paraoxonase PON1 55 and 192 polymorphism and paraoxonase activity and concentration in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Atherosclerosis* 1998;139:341-349.
115. Bergesio F, Monzani G, Guasparini A, Ciuti R, Gallucci M, Cristofano C, Castrignano E, Cupisti A, Barsotti G, Marcucci R, Abbate R, Bandini S, Gallo M, Tosi PL, Salvadori M: Cardiovascular risk factors in severe chronic renal failure: the role of dietary treatment. *Clin Nephrol* 2005;64:103-112.
116. Kim SB, Yang WS, Kang ES, Min WK, Park JS: Lipoprotein(a) and apolipoprotein(a) phenotypes in patients with end-stage renal disease. *Perit Dial Int* 1997;17:236-242.
117. Sahin S, Manga SG, Kantarci G, Ergin H, Sezgin O: Lipid profile in chronic allograft nephropathy. *Transplant Proc* 2006;38:477-479.
118. McElveen J, Mackness MI, Colley CM, Peard T, Warner S, Walker CH. Distribution of paraoxon hydrolytic activity in the serum of patients after myocardial infarction. *Clin Chem* 1986;32:671-673.

119. Navab M, Hama-Levy S, Van Lenten BJ, Fonarow GC, Cardinez CJ, Castellani LW, Brennan ML, Lusis AJ, Fogelman AM, La Du BN: Mildly oxidized LDL induces an increased apolipoprotein J/paraoxonase ratio. *J Clin Invest* 1997;99:2005-2019.
120. Mackness B, Durrington P, McElduff P, Yarnell J, Azam N, Watt M, Mackness M: Low paraoxonase activity predicts coronary events in the Caerphilly Prospective Study. *Circulation* 2003;107:2775-2779.
121. Baum L, Ng HK, Woo KS, Tomlinson B, Rainer TH, Chen X, Cheung WS, Chan DK, Thomas GN, Tong CS, Wong KS: Paraoxonase 1 gene Q192R polymorphism affects stroke and myocardial infarction risk. *Clin Biochem* 2006;39:191-195.
122. Meschia JF, Worrall BB: New advances in identifying genetic anomalies in stroke-prone probands. *Curr Neurol Neurosci Rep* 2004;4:420-426.
123. Pasdar A, Ross-Adams H, Cumming A, Cheung J, Whalley L, St CD, MacLeod MJ: Paraoxonase gene polymorphisms and haplotype analysis in a stroke population. *BMC Med Genet* 2006;7:28.
124. Ranade K, Kirchgessner TG, Iakoubova OA, Devlin JJ, DelMonte T, Vishnupad P, Hui L, Tsuchihashi Z, Sacks FM, Sabatine MS, Braunwald E, White TJ, Shaw PM, Dracopoli NC: Evaluation of the paraoxonases as candidate genes for stroke: Gln192Arg polymorphism in the paraoxonase 1 gene is associated with increased risk of stroke. *Stroke* 2005;36:2346-2350.
125. Voetsch B, Benke KS, Panhuysen CI, Damasceno BP, Loscalzo J: The combined effect of paraoxonase promoter and coding region polymorphisms on the risk of arterial ischemic stroke among young adults. *Arch Neurol* 2004;61:351-356.
126. Imai Y, Morita H, Kurihara H, Sugiyama T, Kato N, Ebihara A, Hamada C, Kurihara Y, Shindo T, Oh-hashii Y, Yazaki Y: Evidence for association between paraoxonase gene polymorphisms and atherosclerotic diseases. *Atherosclerosis* 2000;149:435-442.

127. Ferre N, Camps J, Cabre M, Paul A, Joven J: Hepatic paraoxonase activity alterations and free radical production in rats with experimental cirrhosis. *Metabolism* 2001;50:997-1000.
128. Ferre N, Camps J, Prats E, Vilella E, Paul A, Figuera L, Joven J: Serum paraoxonase activity: a new additional test for the improved evaluation of chronic liver damage. *Clin Chem* 2002;48:261-268.
129. Ferre N, Marsillach J, Camps J, Mackness B, Mackness M, Riu F, Coll B, Tous M, Joven J: Paraoxonase-1 is associated with oxidative stress, fibrosis and FAS expression in chronic liver diseases. *J Hepatol* 2006;45:51-9.
130. Dantoine TF, Drouet M, Debord J, Merle L, Cogne M, Charmes JP: Paraoxonase 1 192/55 gene polymorphisms in Alzheimer's disease. *Ann N Y Acad Sci* 2002;977:239-244.
131. Kalman J, Kudchodkar BJ, Murray K, McConathy WJ, Juhasz A, Janka Z, Lacko AG: Evaluation of serum-lipid-related cardiovascular risk factors in Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord* 1999;10:488-493.
132. Paragh G, Balla P, Katona E, Seres I, Egerhazi A, Degrell I: Serum paraoxonase activity changes in patients with Alzheimer's disease and vascular dementia. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2002;252:63-67.
133. Pola R, Flex A, Ciaburri M, Rovella E, Valiani A, Reali G, Silveri MC, Bernabei R: Responsiveness to cholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease: a possible role for the 192 Q/R polymorphism of the PON-1 gene. *Neurosci Lett* 2005;382:338-341.
134. Pola R, Gaetani E, Flex A, Gerardino L, Aloï F, Flore R, Serricchio M, Pola P, Bernabei R: Lack of association between Alzheimer's disease and Gln-Arg 192 Q/R polymorphism of the PON-1 gene in an Italian population. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2003;15:88-91.

135. Sodeyama N, Yamada M, Itoh Y, Suematsu N, Matsushita M, Otomo E, Mizusawa H: No association of paraoxonase gene polymorphism with atherosclerosis or Alzheimer's disease. *Neurology* 1999;53:1146-1148.
136. Zuliani G, Ble' A, Zanca R, Munari MR, Zurlo A, Vavalle C, Atti AR, Fellin R: Genetic polymorphisms in older subjects with vascular or Alzheimer's dementia. *Acta Neurol Scand* 2001;103:304-308.
137. Akcay MN, Polat MF, Yilmaz I, Akcay G: Serum paraoxonase levels in pancreatic cancer. *Hepatogastroenterology* 2003;50:Sccxxv-Sccxxvii.
138. Akcay MN, Yilmaz I, Polat MF, Akcay G: Serum paraoxonase levels in gastric cancer. *Hepatogastroenterology* 2003;50:Sccclxxiii-Sccclxxv.
139. Dursun P, Demirtas E, Bayrak A, Yarali H: Decreased serum paraoxonase 1 (PON1) activity: an additional risk factor for atherosclerotic heart disease in patients with PCOS? *Hum Reprod* 2006;21:104-108.
140. Searles NS, Mueller BA, De Roos AJ, Viernes HM, Farin FM, Checkoway H: Risk of brain tumors in children and susceptibility to organophosphorus insecticides: the potential role of paraoxonase (PON). *Environ Health Perspect* 2005;113:909-913.
141. Dirican M, Akca R, Sarandol E, Dilek K: Serum paraoxonase activity in uremic predialysis and hemodialysis patients. *J Nephrol* 2004;17:813-818.
142. Ak G, Ozgönül M, Sözmen EY, Aslan SL, Sözmen B: Renal cortical thickness and PON1 activity both decrease in chronic renal failure. *J Nephrol* 2002;15:144-149.
143. Itahara T, Suehiro T, Ikeda Y, Inoue M, Nakamura T, Kumon Y, Kawada M, Hashimoto K: Serum paraoxonase and arylesterase activities in hemodialysis patients. *J Atheroscler Thromb* 2000;7:152-158.
144. Schiavon R, De Fanti E, Giavarina D, Biasioli S, Cavalcanti G, Guidi G: Serum paraoxonase activity is decreased in uremic patients. *Clin Chim Acta* 1996;247:71-80.

145. Suehiro T, Ikeda Y, Shiinoki T, Inoue M, Kumon Y, Itahara T, Hashimoto K: Serum paraoxonase (PON1) concentration in patients undergoing hemodialysis. *J Atheroscler Thromb* 2002;9:133-138.
146. Ferretti G, Bacchetti T, Masciangelo S, Pallotta G: Lipid peroxidation in hemodialysis patients: effect of vitamin C supplementation. *Clin Biochem* 2008;41:381-386.
147. Dirican M, Sarandol E, Serdar Z, Ocak N, Dilek K: Oxidative status and prevalent cardiovascular disease in patients with chronic renal failure treated by hemodialysis. *Clin Nephrol* 2007;68:144-150.
148. Ikeda Y, Suehiro T, Itahara T, Inui Y, Chikazawa H, Inoue M, Arii K, Hashimoto K: Human serum paraoxonase concentration predicts cardiovascular mortality in hemodialysis patients. *Clin Nephrol* 2007;67:358-365.
149. Rajković MG, Barišić K, Juretić D, Grubišić TŽ, Flegar-Meštrić Z, Rumora L: Polymorphisms of pon1 and pon2 genes in hemodialyzed patients. *Clin Biochem* 2011;44:964-968.
150. Ferré N, Camps J, Fernández-Ballart J, Arija V, Murphy MM, Ceruelo S, Biarnés E, Vilella E, Tous M, Joven J: Regulation of serum paraoxonase activity by genetic, nutritional, and lifestyle factors in the general population. *Clin Chem* 2003;49(9):1491-1497.
151. Aviram M, Billecke S, Sorenson R, Bisgaier C, Newton R, Rosenblat M, Erogul J, Hsu C, Dunlop C, La Du B: Paraoxonase active site required for protection against LDL oxidation involves its free sulfhydryl group and is different from that required for its arylesterase/paraoxonase activities: selective action of human paraoxonase allozymes Q and R. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:1617.
152. Paragh G, Seres I, Harangi M, Pocsai Z, Asztalos L, Locsey L, Szeles G, Kardos L, Varga E, Karpati I, Ádány R: Discordance in human paraoxonase-1 gene between

- phenotypes and genotypes in chronic kidney disease. *Nephron Clin Pract* 2009;113(1):c46-c53.
153. La Du BN, Eckerson HW: The polymorphic paraoxonase/arylesterase isozymes of human serum. *Fed Proc* 1984;43:2338-2341.
154. Vincent-Viry M, Sass C, Bastien S, Aguilon D, Siest G, Visvikis S: PON1-192 phenotype and genotype assessments in 918 subjects of the Stanislas cohort study. *Clin Chem Lab Med* 2003;41:535-540.
155. Newman DJ: Cystatin C. *Ann Clin Biochem* 2002;39:89-104.
156. Hojs R, Bevc S, Ekart R, Gorenjak M, Puklavec L: Serum cystatin C as an endogenous marker of renal function in patients with chronic kidney disease. *Ren Fail* 2008;30:181-186.
157. Madero M, Sarnak MJ, Stevens LA: Serum cystatin C as a marker of glomerular filtration rate. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2006;15:610-616.
158. Abrahamson M, Alvarez-Fernandez M, Nathanson CM: Cystatins. *Biochem Soc Symp* 2003;179-199.
159. Bengtsson E, To F, Hakansson K, Grubb A, Branen L, Nilsson J, Jovinge S: Lack of the cysteine protease inhibitor cystatin C promotes atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:2151-2156.
160. Clarke R, Lewington S, Landray M: Homocysteine, renal function, and risk of cardiovascular disease. *Kidney Int Suppl* 2003;S131-S133.
161. Lawrence de Koning AB, Werstuck GH, Zhou J, Austin RC: Hyperhomocysteinemia and its role in the development of atherosclerosis. *Clin Biochem* 2003;36:431-441.
162. Jakubowski H: The molecular basis of homocysteine thiolactone-mediated vascular disease. *Clin Chem Lab Med* 2007;45:1704-1716.

163. Lewerin C, Ljungman S, Nilsson-Ehle H: Glomerular filtration rate as measured by serum cystatin C is an important determinant of plasma homocysteine and serum methylmalonic acid in the elderly. *J Intern Med* 2007;261:65-73.
164. Locsey L, Szegedi J, Dan A, Gorogh S, Toths E: Homocysteine and cystatin C level changes in haemodialysed patients and connection with cerebro- and cardiovascular complications. *Acta Physiol Hung* 2001;88:293-299.
165. Bostom AG, Gohh RY, Beaulieu AJ, Han H, Jacques PF, Selhub J, Dworkin L, Rosenberg IH: Determinants of fasting plasma total homocysteine levels among chronic stable renal transplant recipients. *Transplantation* 1999;68:257-261.
166. Kerkeni M, Addad F, Chauffert M, Chuniaud L, Miled A, Trivin F, Maaroufi K: Hyperhomocysteinemia, paraoxonase activity and risk of coronary artery disease. *Clin Biochem* 2006;39:821-825.
167. Paragh G, Balogh Z, Seres I, Harangi M, Boda J, Kovacs P: Effect of gemfibrozil on HDL-associated serum paraoxonase activity and lipoprotein profile in patients with hyperlipidaemia. *Clin Drug Invest* 2000;19:277–282.
168. Széles G, Vokó Z, Jenei T, Kardos L, Pocsai Z, Bajtay A, Papp E, Pásti G, Kósa Z, Molnár I, Lun K, Adány R: A preliminary evaluation of a health monitoring programme in Hungary. *Eur J Public Health* 2005;15:26-32.
169. Agachan B, Yilmaz H, Isbir T, Akoglu E: Paraoxonase 192 polymorphism and its relationship to serum lipids in Turkish renal transplant recipients. *Transplant Proc* 2004;36:1385-1386.
170. DeLong DM, DeLong ER, Wood PD, Lippel K, Rifkind BM: A comparison of methods for the estimation of plasma low- and very low-density lipoprotein cholesterol. The Lipid Research Clinics Prevalence Study. *JAMA* 1986;256(17):2372-2377.

171. Eckerson HW, Wyte CM, La Du BN: The human serum paraoxonase/arylesterase polymorphism. *Am J Hum Genet* 1983;35:1126-1138.
172. Pocsai Z, Tóth Z, Paragh G, Széles G, Ádány R: Rapid genotyping of paraoxonase 55 and 192 mutations by melting point analysis using real time PCR technology. *Clin Chim Acta* 2003;332:31-36.
173. Hirata Y, Okawa K, Ikeda M, Seike M, Matsumoto M, Kodama H: Low density lipoprotein oxidized in xanthoma tissue induces the formation and infiltration of foam cells, *J Dermatol Sci* 2002;30:248-255.
174. Frostegard J, Kjellman B, Gidlund M, Andersson B, Jindal S, Kiessling R: Induction of heat shock protein in monocytic cells by oxidized low density lipoprotein. *Atherosclerosis* 1996;121:93-103.
175. Akhmedova SN, Yakimovsky AK, Schwartz EI: Paraoxonase 1 Met-Leu 54 polymorphism is associated with Parkinson's disease. *J Neurol Sci* 2001;184:179-182.
176. Mackness B, Davies GK, Turkie W, Lee E, Roberts DH, Hill E, Roberts C, Durrington PN, Mackness MI: Paraoxonase status in coronary heart disease: are activity and concentration more important than genotype? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:1451-1457.
177. Brophy VH, Jampsa RL, Clendenning JB, McKinstry LA, Jarvik GP, Furlong CE: Effects of 5' regulatory-region polymorphisms on paraoxonase-gene (PON1) expression. *Am J Hum Genet* 2001;68:1428-1436.
178. Covic A, Gusbeth-Tatomir P, Goldsmith DJ: The challenge of cardiovascular risk factors in end-stage renal disease. *J Nephrol* 2003;16:476-486.
179. Kalogerakis G, Baker AM, Christov S, Rowley K.G, Dwyer K, Winterbourn C, Best, JD, Jenkins AJ: Oxidative stress and high-density lipoprotein function in Type I diabetes and end-stage renal disease. *Clin Sci* 2005;108:497-506.

180. van Himbergen TM, Roest M, de Graaf J, Jansen EH, Hattori H, Kastelein JJ, Voorbij HA, Stalenhoef AF, van Tits LJ: Indications that paraoxonase-1 contributes to plasma high density lipoprotein levels in familial hypercholesterolemia. *J Lipid Res* 2005;46:445-451.
181. Abraham P, Sugumar E: Enhanced PON1 activity in the kidneys of cyclophosphamide treated rats may play a protective role as an antioxidant against cyclophosphamide induced oxidative stress. *Arch Toxicol* 2008;82:237-238.
182. Roest M, van Himbergen TM, Barendrecht AB, Peeters PH, van der Schouw YT, Voorbij HA: Genetic and environmental determinants of the PON-1 phenotype. *Eur J Clin Invest* 2007;37:187-196.
183. Shetty JK, Prakash M, Tripathy S, Verma M, Shashidhar KN, Sureshbabu P: Serum paraoxonase activity and protein thiols in chronic renal failure patients. *Asian J Biochem* 2007;2:274–278.
184. Mackness MI, Hallam SD, Peard T, Warner S, Walker CH: The separation of sheep and human serum A-esterase activity with the lipoprotein fraction by ultracentrifugation. *Comp Biochem Physiol B* 1985;82:675–677.
185. Gugliucci L, Mehlhaff K, Kinugasa E, Ogata H, Hermo R, Schulze J, Kimura S: Paraoxonase-1 concentrations in end-stage renal disease patients increase after hemodialysis. Correlation with low molecular AGE adducts clearance. *Clin Chim Acta* 2007;377:213–220.
186. Roxborough HE, Millar CA, McEneny J, Young IS: Carbamylation inhibits the ferroxidase activity of ceruloplasmin. *Biochem Biophys Res Commun* 1995;214:1073–1078.

187. Sutherland WH, de Jong SA, Walker RJ: Hypochlorous acid and low serum paraoxonase activity in haemodialysis patients: an in vitro study. *Nephrol Dial Transplant* 2004;19(1):75-82.
188. Aviram M, Rosenblat M, Billecke S, Eroglu J, Sorenson R, Bisgaier CL, Newton RS, La Du B: Human serum paraoxonase (PON 1) is inactivated by oxidized low density lipoprotein and preserved by antioxidants. *Free Radic Biol Med* 1999;26:892–904.
189. Juretic D, Tadijanovic M, Rekić B, Simeon-Rudolf V, Reiner E, Baricic M: Serum paraoxonase activities in hemodialyzed uremic patients: cohort study. *Croat Med J* 2001;42:146-150.
190. Paragh G, Seres I, Balogh Z, Varga Z, Karpati I, Matyus J, Ujhelyi L, Kakuk G: The serum paraoxonase activity in patients with chronic renal failure and hyperlipidemia. *Nephron* 1998;80:166-170.
191. Lahrach H, Ghalim N, Taki H, Kettani A, Er-RacKVEi L, Ramdani B, Saile R: Serum paraoxonase activity, high-sensitivity C-reactive protein, and lipoprotein disturbances in end-stage renal disease patients on long-term hemodialysis. *J Clin Lipidol* 2008;2:43–50.
192. Beltowski J: Protein homocysteinylation: A new mechanism of atherogenesis? *Postepy Hig Med Dow* 2005;59:392–404.
193. Jakubowski H: Homocysteine thiolactone: Metabolic origin and protein homocysteinylation in humans. *J Nutr* 2000;130:S377–S381.
194. Prakash M, Phani NM, Kavya R, Supriya M: Paraoxonase: Its antiatherogenic role in chronic renal failure. *Indian J Nephrol* 2010;20(1):9–14.
195. Bokenkamp A, Herget-Rosenthal S, Bokenkamp R: Cystatin C, kidney function and cardiovascular disease. *Pediatr Nephrol* 2006;21:1223-1230.

196. Marumo F, Kamata K, Okubo M: Deranged concentrations of water-soluble vitamins in the blood of undialyzed and dialyzed patients with chronic renal failure. *Int J Artif Organs* 1986;9:17-24.
197. Janel N, Robert K, Demuth K, Gouedard C, Barouki R, Chasse JF: Inverse relationship between phenylacetate hydrolase activity of the serum PON1 protein and homocysteinemia in humans *Thromb Haemost* 2005;93:182-183.
198. Murphy MM, Marsillach J, Camps J, Fernandez-Ballart J, Mackness B, Mackness M, Ferre N, Joven J: Influence of PON1 polymorphisms on the association between serum paraoxonase 1 and homocysteinemia in a general population. *Clin Chem* 2006;52:781-782.
199. Lacinski M, Skorupski W, Cieslinski A, Sokolowska J, Trzeciak WH, Jakubowski H: Determinants of homocysteine-thiolactonase activity of the paraoxonase-1 (PON1) protein in humans. *Cell Mol Biol* 2004;50:885-893.
200. Ferretti G, Bacchetti T, Marotti E, Curatola G: Effect of homocysteinylation on human high-density lipoproteins: A correlation with paraoxonase activity. *Metabolism* 2003;52:146-151.
201. Nakano E, Taiwo FA, Nugent D, Griffiths HR, Aldred S, Paisi M, Kwok M, Bhatt P, Hill MH, Moat S, Powers HJ: Downstream effects on human low density lipoprotein of homocysteine exported from endothelial cells in an in vitro system. *J Lipid Res* 2005;46:484-493.



DEBRECENI EGYETEM EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR
KENÉZY ÉLETTUDOMÁNYI KÖNYVTÁRA

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

Jelölt: Varga Éva

Neptun kód: JG73XT

Doktori Iskola: Egészségtudományok Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

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





További Közlemények

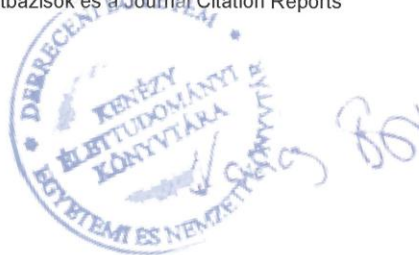
4. Oláh, A., Asztalos, L., Ivády, G., **Varga, É.**, Kovács, M.Á., Kappelmayer, J., Varga, J.: Monitoring of mycophenolic acid and kidney function during combined immunosuppressive therapy.
Clin. Chem. Lab. Med. 49 (11), 1849-1853, 2011.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1515/CCLM.2011.678>
IF:2.069 (2010)
5. Káplár, M., Paragh, G., Erdei, A., Csongrádi, É., **Varga, É.**, Garai, I., Szabados, L., Galuska, L., Varga, J.: Changes in cerebral blood flow detected by SPECT in type 1 and type 2 diabetic patients.
J. Nucl. Med. 50 (12), 1993-1998, 2009.
DOI: <http://dx.doi.org/10.2967/jnumed.109.066068>
IF:6.424
6. Paragh G., **Varga É.**, Márk L.: Az LDL-koleszterin jelentősége a kardiovaszkuláris események gyakoriságának csökkentésében.
Kardiovaszk. Prev. Rehab. 1 (2), 26-35, 2009.

Összesített impakt faktor: 13.625

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

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

Debrecen, 2012.02.13



Függelék

Tárgyszavak

cisztatin C, dyslipidaemia, érelmeszesedés, fenotípus, genotípus, HDL, homocisztein, humán paraoxonáz-1, kardiovaszkuláris megbetegedés, krónikus veseelégtelenség, veseátültetés

Keywords

atherosclerosis, cardiovascular morbidity, chronic renal failure, cystatin C, dyslipidemia, genotype, HDL, homocysteine, human paraoxonase-1, phenotype, renal transplantation

Köszönetnyilvánítás

Vizsgálatainkat az OTKA K63025 számú, az ETT Orvosi Kutatási Tanácsának 149-02 és 243/2006 számú, a Magyar Nemzeti Fejlesztési Alap OMFB-1613/2006 számú, valamint a TÁMOP 4.2.1/B-09/1/KONV-2010-0007 számú projektje finanszírozta. A vizsgálatot támogatta az Új Magyarország Fejlesztési Terve, az Európai Szociális Alap és az Európai Regionális Fejlesztési Alap.

Rövidítések

AGEs: glikációs végtermékek, advanced glycation end-products

AMI: akut miokardiális infarktus

ANOVA: varianciaanalízis, analysis of variance

ApoA: apolipoprotein A

ApoB: apolipoprotein B

ApoC: apolipoprotein C

ApoE: apolipoprotein E

ApoJ: apolipoprotein J

Aryl: arilészteráz(-aktivitás)

BMI: testtömegindex

BNP: B-típusú nátriuretikus peptid

CETP: koleszterinészter-transzferprotein

CRP: C-reaktív protein

DL: dyslipidaemiás

eNOS: endoteliális nitrogén-monoxid szintáz

EDTA: etilén-diamin-tetraecetsav

ELISA: enzimhez kötött immunoszorbens módszer, enzyme-linked immunosorbent assay

FPIA: fluoreszcens polarizációs módszer, fluorescence polarization immunoassay

GFR: glomeruláris filtrációs ráta

HDL(-C): nagy sűrűségű lipoprotein(-koleszterin), high-density lipoprotein(-cholesterol)

HIV: humán immundeficiencia-vírus

HL: hepatikus lipáz

ICAM: sejtközötti adhéziós molekula, intercellular adhesion molecule

IDL(-C): közepes sűrűségű lipoprotein(-koleszterin), intermediate-density lipoprotein(-cholesterol)

IL: interleukin

IQ: intelligencia-hányados

ISZB: ischaemiás szívbetegség

K: kontroll(-csoport)

KVE: krónikus veseelégtelenség(-ben szenvedő beteg)

LCAT: lecitin-koleszterol aciltranszferáz

LDL(-C): kis sűrűségű lipoprotein(-koleszterin), low-density lipoprotein(-cholesterol)

LDLR: LDL-receptor

Lp(a): lipoprotein(a)

mRNS: messenger RNS

NO: nitrogénmonoxid

oxLDL: oxidált LDL

PAFAH: trombocitaaktiváló faktor acetilhidroláz

PON: paraoxonáz(-aktivitás)

PON1: humán paraoxonáz-1 (enzim, fehérje)

PON2: humán paraoxonáz-2

PON3: humán paraoxonáz-3

SAH(-hidroláz): S-adenozil-homocisztein(-hidroláz)

sdLDL: kicsi, sűrű LDL, small, dense LDL

TBARS: tiobarbitursavval reagáló anyagok

TG: triglicerid

TGF: transzformáló növekedési faktor

TNF: tumornekrozis-faktor

tRNS: transzfer RNS

TX: (vese-)transzplantált

VCAM: vaszkuláris sejtadhéziós molekula, vascular cell adhesion molecule

VLDL(-C): nagyon kis sűrűségű lipoprotein(-koleszterin), very low-density lipoprotein(-cholesterol)

WHO: Egészségügyi Világszervezet, World Health Organization