



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΤΟΜΕΑΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ
Β' ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΜΕ RIMONABANT ΩΣ
ΜΟΝΟΘΕΡΑΠΕΙΑ Ή ΣΕ ΣΥΝΔΥΑΣΜΟ ΜΕ
ΥΠΟΛΙΠΙΔΑΙΜΙΚΑ ΦΑΡΜΑΚΑ ΣΤΙΣ ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΕΣ
ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ ΥΠΕΡΒΑΡΩΝ ΚΑΙ ΠΑΧΥΣΑΡΚΩΝ
ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΔΥΣΛΙΠΙΔΑΙΜΙΑ**

**ΜΑΤΙΑΝΤΑ ΦΛΩΡΕΝΤΙΝ
ΙΑΤΡΟΣ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2017



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΤΟΜΕΑΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ
Β΄ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΜΕ RIMONABANT ΩΣ
ΜΟΝΟΘΕΡΑΠΕΙΑ Ή ΣΕ ΣΥΝΔΥΑΣΜΟ ΜΕ
ΥΠΟΛΙΠΙΔΑΙΜΙΚΑ ΦΑΡΜΑΚΑ ΣΤΙΣ ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΕΣ
ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ ΥΠΕΡΒΑΡΩΝ ΚΑΙ ΠΑΧΥΣΑΡΚΩΝ
ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΔΥΣΛΙΠΙΔΑΙΜΙΑ**

**ΜΑΤΙΑΝΤΑ ΦΛΩΡΕΝΤΙΝ
ΙΑΤΡΟΣ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2017

«Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το Τμήμα Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα Ν. 5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2 (νομική κατοχύρωση του Ιατρικού Τμήματος)».

Ημερομηνία αίτησης της κ. Φλωρεντίν Ματίλντας: 21-9-2006

Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 592^α/24-10-2006

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

Επιβλέπων

Ελισάφ Μωυσής, Καθηγητής Παθολογίας

Μέλη

Γουδέβενος Ιωάννης, Καθηγητής Παθολογίας-Καρδιολογίας

Τσελέπης Αλέξανδρος, Καθηγητής Βιοχημείας Τμήματος Χημείας

Ημερομηνία ορισμού θέματος: 11-1-2007

«Επίδραση της θεραπείας Rimonabant ως μονοθεραπεία ή σε συνδυασμό με υπολιπιδαιμικά φάρμακα στις μεταβολικές παραμέτρους υπέρβαρων και παχύσαρκων ασθενών με δυσλιπιδαιμία».

ΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ : 791^α/1-11-2016

1. Γουδέβενος Ιωάννης, Καθηγητής Παθολογίας-Καρδιολογίας, του Τμήματος Ιατρικής του Παν/μίου Ιωαννίνων
2. Δρόσος Αλέξανδρος, Καθηγητής Παθολογίας-Ρευματολογίας, του Τμήματος Ιατρικής του Παν/μίου Ιωαννίνων
3. Ελισάφ Μωυσής, Καθηγητής Παθολογίας, του Τμήματος Ιατρικής του Παν/μίου Ιωαννίνων
4. Τσελέπης Αλέξανδρος Καθηγητής Βιοχημείας Τμήματος Χημείας του Παν/μίου Ιωαννίνων
5. Μπαϊρακτάρη Ελένη Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Κλινικής Χημείας του Τμήματος Ιατρικής του Παν/μίου Ιωαννίνων
6. Μηλιώνης Χαράλαμπος, Αναπληρωτής Καθηγητής Παθολογίας, του Τμήματος Ιατρικής του Παν/μίου Ιωαννίνων
7. Τσιμιχόδημος Βασίλειος, Επίκουρος Καθηγητής Παθολογίας, του Τμήματος Ιατρικής του Παν/μίου Ιωαννίνων

Έγκριση Διδακτορικής Διατριβής με βαθμό «ΑΡΙΣΤΑ» στις 13-1-2017

ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΤΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

Πασχόπουλος Μηνάς

Καθηγητής Μαιευτικής-Γυναικολογίας



Στους γονείς, την αδερφή και το σύζυγό μου

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διδακτορική διατριβή εκπονήθηκε στο Ιατρείο Μελέτης των Διαταραχών του Μεταβολισμού των Λιπιδίων του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Ιωαννίνων (ΠΓΝΙ) και το εργαστήριο Βιοχημείας του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων σε συνεργασία με το βιοχημικό εργαστήριο του ΠΓΝΙ.

Ο κύριος εμπνευστής και καθοδηγητής μου κατά τη διάρκεια εκπόνησης της παρούσας διδακτορικής διατριβής ήταν ο μεγαλύτερος δάσκαλός μου στην Ιατρική και επιβλέπων κ. Μωυσής Ελισάφ, καθηγητής Παθολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Χωρίς τη βοήθεια, τη συμπαράσταση και τις πολύτιμες υποδείξεις του δεν θα ήταν δυνατή η πραγματοποίηση της παρούσας μελέτης. Η συνεργασία μας ήταν εξαιρετική τιμή για μένα.

Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα το δάσκαλό μου κ. Αλέξανδρο Τσελέπη, καθηγητή Βιοχημείας του τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, για την υπομονή και το χρόνο που αφιέρωσε στα πρώτα μου βήματα στη βασική έρευνα και την εμπιστοσύνη που έδειξε στο πρόσωπό μου.

Ακολούθως, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Ιωάννη Γουδέβενο, καθηγητή Καρδιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, για το ενδιαφέρον και τη βοήθειά του κατά την εκπόνηση της παρούσας διδακτορικής διατριβής.

Ευχαριστώ επίσης τα υπόλοιπα μέλη της επταμελούς επιτροπής, Αλέξανδρο Δρόσο, Χαράλαμπο Μηλιώνη, Ελένη Μπαϊρακτάρη και Βασίλειο Τσιμιχόδημο για το ενδιαφέρον και την υποστήριξή τους.

Σε αυτό το σημείο θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου σε ορισμένους συνεργάτες μου για την καθοδήγηση, την πολύτιμη βοήθειά τους στο εργαστήριο και τη συγγραφή της παρούσας μελέτης, καθώς και τη συμπαράστασή τους όλα αυτά τα χρόνια. Συγκεκριμένα, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την κ. Ειρήνη Γαζή, τον κ. Μιχάλη Κωσταπάνο και τον κ. Χρήστο Ρίζο, ιατρούς και διδάκτορες του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, καθώς και τον κ. Ευάγγελο Λυμπερόπουλο, επίκουρο καθηγητή Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Τέλος, ευχαριστώ την κ. Ρέα Ντόντη, νοσηλεύτρια του Ιατρείου Μελέτης των Διαταραχών του Μεταβολισμού των Λιπιδίων του ΠΓΝΙ για την πολύτιμη βοήθειά της στη συλλογή δειγμάτων.

Κλείνοντας, θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στους γονείς μου Τζέκη και Νταίζη, την αδερφή μου Νέλλη και το σύζυγό μου Σαλβατώρ για την ηθική υποστήριξη και συμπαράσταση καθόλη τη διάρκεια εκπόνησης της παρούσας διδακτορικής διατριβής. Χωρίς αυτούς θα ήταν αδύνατη η ολοκλήρωσή της.

Ιωάννινα, Ιανουάριος 2017

Ματίλντα Φλωρεντίν

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ		ΣΕΛ
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1		11
ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ ΚΑΙ ΛΙΠΟΠΡΩΤΕΪΝΕΣ		11
1.1	Βιοσύνθεση και ρόλος της χοληστερόλης	11
1.2	Λιποπρωτεΐνες	12
1.2.1	Δομή των λιποπρωτεϊνών	12
1.2.2	Χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (low-density lipoproteins; LDL)	13
1.2.3	Ενδιάμεσης πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (intermediate-density lipoproteins; IDL)	14
1.2.4	Υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (high-density lipoproteins; HDL)	14
1.2.5	Πλούσιες σε τριγλυκερίδια λιποπρωτεΐνες (χυλομικρά, VLDL και τα κατάλοιπά τους)	15
1.2.6	Λιποπρωτεΐνη (a) [lipoprotein (a); Lp(a)]	16
1.3	ΑΠΟΛΙΠΟΠΡΩΤΕΪΝΕΣ	17
1.3.1	ApoA1	17
1.3.2	ApoB	18
1.3.3	ApoE	18
1.3.4	ApoC-II	19
1.3.5	ApoC-III	19
1.4	ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΛΙΠΟΠΡΩΤΕΪΝΩΝ	20
1.5	ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΤΟΥ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ ΤΩΝ ΛΙΠΟΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΚΑΙ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΗ ΝΟΣΟΣ	22
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2		25
2.1.	ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ ΚΑΙ ΛΙΠΩΔΗΣ ΙΣΤΟΣ	25
2.1.1	Ορισμός της παχυσαρκίας	25
2.1.2	Επιπολασμός της παχυσαρκίας	25
2.1.3	Προβλήματα υγείας σχετιζόμενα με την παχυσαρκία	27
2.1.4	Μέθοδοι εκτίμησης της παχυσαρκίας	29
2.1.5	Δομή και λειτουργίες του λιπώδους ιστού	30

2.1.6	Η λιπογένεση	31
2.1.7	Μεταβολικές διαδικασίες στο λιποκύτταρο	31
2.1.8	Αδιποκίνες, φλεγμονή και αθηροσκλήρωση	32
2.1.9	Σπλαγγχνική παχυσαρκία και αντίσταση στην ινσουλίνη	34
2.1.10	Σπλαγγχνική παχυσαρκία και δυσλιπιδαιμία	35
2.1.11	Θεραπευτικές παρεμβάσεις στην παχυσαρκία	36
2.2	ΤΟ ΕΝΔΟΓΕΝΕΣ ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΩΝ ΚΑΝΝΑΒΙΝΟΕΙΔΩΝ	38
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3		41
ΦΑΡΜΑΚΑ		41
3.1	RIMONABANT	41
3.1.1	Γενικά	41
3.1.2	Φαρμακοκινητική	41
3.1.3	Οι κλινικές μελέτες του rimonabant	42
3.1.3.1	RIO-Europe	42
3.1.3.2	RIO-Lipids	43
3.1.3.3	RIO-North America	44
3.1.3.4	RIO-Diabetes	46
3.1.3.5	SERENADE	47
3.1.3.6	ARPEGGIO	49
3.1.3.7	ADAGIO-Lipids	50
3.1.3.8	STRADIVARIUS	52
3.1.3.9	AUDITOR	53
3.1.3.10	CRESCENDO	54
3.1.3.11	CARDIO-REDUCE	55
3.2	ΦΑΙΝΟΦΙΜΠΡΑΤΗ	56
3.2.1	Γενικά	56
3.2.2	Φαρμακοκινητική	56
3.2.3	Μηχανισμός δράσης	57
3.2.4	Επίδραση στο λιπιδαιμικό προφίλ	57
3.2.5	Επιδράσεις σε άλλες παραμέτρους	59
3.2.6	Μεγάλες τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες: Η μελέτη FIELD	62
3.2.7	Συνδυασμοί με άλλα υπολιπιδαιμικά φάρμακα	63

3.2.7.1	Συνδυασμός με στατίνες	63
3.2.7.2	Συνδυασμός φαινοφιμπράτης-εξετιμίμπης	64
3.2.7.3	Συνδυασμός φαινοφιμπράτης με ρητίνες δέσμευσης των χολικών οξέων	65
3.2.7.4	Συνδυασμός με ω-3 λιπαρά οξέα	66
3.2.8	Συνδυασμός της φαινοφιμπράτης με ορλιστάτη	66
3.2.9	Φαινοφιμπράτη και καρδιαγγειακός κίνδυνος	67
3.2.10	Ανεπιθύμητες ενέργειες της φαινοφιμπράτης	68
3.2.10.1	Μυοπάθεια	68
3.2.10.2	Ηπατοτοξικότητα	68
3.2.10.3	Γαστρεντερικές διαταραχές	68
3.2.10.4	Δερματικές ανεπιθύμητες επιδράσεις	69
3.2.10.5	Περιφερική νευροπάθεια	69
3.2.10.6	Στυτική δυσλειτουργία	69
3.2.10.7	Γυναικομαστία	69
3.2.10.8	Νεφροτοξικότητα	69
3.2.10.9	Αιμοποιητικό σύστημα	70
3.2.10.10	ΚΝΣ	70
3.2.10.11	Θρομβοεμβολική νόσος	70
3.3	EZETIMIMIPH	70
3.3.1	Γενικά-μηχανισμός δράσης	70
3.3.2	Φαρμακοκινητική	71
3.3.3	Επίδραση στο λιπιδαιμικό προφίλ	72
3.3.4	Επιδράσεις σε άλλες παραμέτρους-Πλειοτροπικές δράσεις	73
3.3.5	Μεγάλες τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες	74
3.3.6	Συνδυασμοί με άλλα υπολιπιδαιμικά φάρμακα	76
3.3.6.1	Συνδυασμός με στατίνες	76
3.3.6.2	Συνδυασμός με φιμπράτες	78
3.3.6.3	Συνδυασμός με κολεσεβελάμη	78
3.3.7	Συνδυασμός εξετιμίμπης με ορλιστάτη	79
3.3.8	Ανεπιθύμητες ενέργειες της εξετιμίμπης	80
3.3.8.1	Μυοπάθεια	80

3.3.8.2	Ηπατοτοξικότητα	81
3.3.8.3	Γαστρεντερικές διαταραχές	81
3.3.8.4	Νεοπλασίες	81
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4		83
ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΕΙΔΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΠΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΘΗΚΑΝ ΣΤΗ ΜΕΛΕΤΗ		83
4.1 ΜΙΚΡΑ ΠΥΚΝΑ LDL (sdLDL) ΣΩΜΑΤΙΔΙΑ		83
4.1.1	Σχηματισμός των sdLDL σωματιδίων (Εικόνα 8)	83
4.1.2	Αθηρογόνος δυνατότητα των sdLDL σωματιδίων	84
4.1.3	Συσχέτιση των sdLDL σωματιδίων με την εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου	84
4.2	Η ΣΥΝΔΕΔΕΜΕΝΗ ΜΕ ΛΙΠΟΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΦΩΣΦΟΛΙΠΑΣΗ A₂ (LIPOPROTEIN ASSOCIATED PHOSPHOLIPASE A₂: Lp-PLA₂)	85
4.2.1	Ο παράγοντας ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (platelet activating factor; PAF)	85
4.2.2	Εκκρινόμενη μορφή της PAF-AH (Lp-PLA ₂ του πλάσματος)	86
4.2.3	Συσχέτιση της Lp-PLA ₂ με την εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου	87
4.3	ΠΑΡΑΟΞΟΝΑΣΗ 1 (PON1)	93
4.4	ΛΕΠΤΙΝΗ	95
4.5	ΑΔΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ	96
4.6	ΒΙΣΦΑΤΙΝΗ	98
ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ		101
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ		103
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5		103
ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ		103
5.1	ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	103
5.1.1	Κριτήρια εισαγωγής στη μελέτη	103
5.1.2	Κριτήρια αποκλεισμού από τη μελέτη	103
5.2	ΔΙΑΙΤΗΤΙΚΗ ΑΓΩΓΗ	104
5.3	ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ ΑΓΩΓΗ	104

5.4	ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	104
5.5	ΣΥΜΜΟΡΦΩΣΗ ΣΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΚΑΙ ΑΝΕΠΙΘΥΜΗΤΕΣ ΕΝΕΡΓΕΙΕΣ	104
5.6	ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΚΑΙ ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ	105
5.7	ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΒΑΣΙΚΩΝ ΒΙΟΧΗΜΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ	105
5.8	ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΤΩΝ HDL ΑΠΟ ΠΛΗΡΕΣ ΠΛΑΣΜΑ	107
5.8.1	Αρχή της μεθόδου	107
5.8.2	Υλικά και όργανα	107
5.8.3	Πειραματική πορεία	107
5.9	ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΥΠΟΚΛΑΣΜΑΤΩΝ ΤΩΝ LDL ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ LIPOPRINT SYSTEM	107
5.9.1	Αρχή της μεθόδου	107
5.9.2	Υλικά και όργανα	108
5.9.3	Πειραματική πορεία	108
5.9.4	Σημειώσεις	109
5.10	ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΥΠΟΚΛΑΣΜΑΤΩΝ ΤΩΝ HDL ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ LIPOPRINT SYSTEM	109
5.10.1	Αρχή της μεθόδου	109
5.10.2	Υλικά και όργανα	110
5.10.3	Πειραματική πορεία	110
5.10.4	Σημειώσεις	111
5.11	ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΕΝΖΥΜΙΚΗΣ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ LpLPA ₂	111
5.11.1	Αρχή της μεθόδου	111
5.11.2	Υλικά και όργανα	112
5.11.3	Διαλύματα εργασίας	112
5.11.4	Πειραματική πορεία	112
5.12	ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΩΝ ΠΑΡΑΟΞΟΝΑΣΗΣ ΚΑΙ ΑΡΥΛΕΣΤΕΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΕΝΖΥΜΟΥ ΠΑΡΑΟΞΟΝΑΣΗ 1 (PON1)	114
5.12.1	Αρχή της μεθόδου	114

5.12.2	Αντιδραστήρια-Όργανα	114
5.12.3	Διαλύματα εργασίας	114
5.12.4	Πειραματική διαδικασία	115
5.13	ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΤΗΣ ΛΕΠΤΙΝΗΣ ΣΤΟ ΠΛΑΣΜΑ	115
5.13.1	Αρχή της μεθόδου	115
5.13.2	Υλικά (Human leptin ELISA, Biovendor)	116
5.13.3	Πειραματική διαδικασία	116
5.13.4	Σημειώσεις για τη μέθοδο	117
5.14	ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΤΗΣ ΑΔΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗΣ ΣΤΟ ΠΛΑΣΜΑ	118
5.14.1	Αρχή της μεθόδου	118
5.14.2	Υλικά (Human adiponectin ELISA, Biovendor)	119
5.14.3	Πειραματική διαδικασία	119
5.14.4	Σημειώσεις για τη μέθοδο	120
5.15	ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΤΗΣ ΒΙΣΦΑΤΙΝΗΣ ΣΤΟ ΠΛΑΣΜΑ	121
5.15.1	Αρχή της μεθόδου	121
5.15.2	Υλικά [Visfatin C-terminal (Human)-EIA Kit Phoenix Pharmaceuticals, catalogue number EK-003-80]	121
5.15.3	Πειραματική διαδικασία	122
5.15.4	Σημειώσεις για τη μέθοδο	125
5.16	ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ	125
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6		127
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ		127
6.1	Δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού της μελέτης	127
6.2	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΤΟΥΣ 3 ΜΗΝΕΣ	128
6.2.1	Ανθρωπομετρικές παράμετροι και ΑΠ	128
6.2.2	Παράμετροι του μεταβολισμού των λιπιδίων	129
6.2.3	Παράμετροι του μεταβολισμού των υδατανθράκων	131
6.2.4	Ποιοτικές παράμετροι του μεταβολισμού των LDL	132

6.2.5	Φαινότυπος των HDL σωματιδίων	134
6.2.6	Ενεργότητα της LpPLA ₂ του πλάσματος και της LpPLA ₂ που είναι συνδεδεμένη με τις HDL	136
6.2.7	Ενεργότητα της PON1	137
6.2.8	Αδιποκίνες	138
6.2.8.1	Λεπτίνη	138
6.2.8.2	Αδιπονεκτίνη	139
6.2.8.3	Βισφατίνη	139
6.2.9	Ασφάλεια	140
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7		141
ΣΥΖΗΤΗΣΗ		141
7.1	Επίδραση στις ανθρωπομετρικές παραμέτρους και την ΑΠ	141
7.2	Επίδραση στις παραμέτρους του μεταβολισμού των λιπιδίων	142
7.3	Επίδραση στις παραμέτρους του μεταβολισμού των υδατανθράκων	144
7.4	Επίδραση στις ποιοτικές παραμέτρους του μεταβολισμού των LDL	145
7.5	Επίδραση στο φαινότυπο των HDL σωματιδίων	147
7.6	Επίδραση στην ενεργότητα της LpPLA ₂ του πλάσματος και της LpPLA ₂ που είναι συνδεδεμένη με τις HDL	151
7.7	Επίδραση στην ενεργότητα της PON1	153
7.8	Επίδραση στα επίπεδα των αδιποκινών	154
7.8.1	Επίδραση στα επίπεδα της λεπτίνης	154
7.8.2	Επίδραση στα επίπεδα της αδιπονεκτίνης	156
7.8.3	Επίδραση στα επίπεδα της βισφατίνης	157
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ		161
Περίληψη στην Ελληνική		163
Περίληψη στην Αγγλική		167
Βιβλιογραφία		169

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ ΚΑΙ ΛΙΠΟΠΡΩΤΕΪΝΕΣ

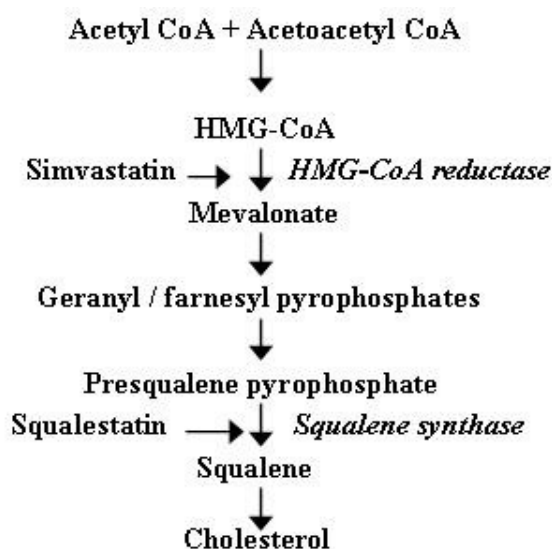
1.1. Βιοσύνθεση και ρόλος της χοληστερόλης

Η χοληστερόλη ($C_{27}H_{46}O$) αποτελεί οργανική μακρομοριακή ένωση που ανήκει στην κατηγορία των στεροειδών [1]. Αποτελεί βασικό συστατικό της κυτταρικής μεμβράνης όλων των κυττάρων του ανθρώπινου σώματος και διαδραματίζει ρυθμιστικό ρόλο στη διαπερατότητά της [2, 3]. Παράλληλα αποτελεί βασικό ρυθμιστή ορισμένων λειτουργιών των κυτταρικών μεμβρανών, όπως είναι η φαγοκυττάρωση και η μετάδοση ενδοκυττάρων σημάτων (signaling) [4, 5]. Η χοληστερόλη είναι απαραίτητη για τη βιοσύνθεση των στεροειδών ορμονών των επινεφριδίων (κορτιζόλη, αλδοστερόνη) και των γονάδων (προγεστερόνη, οιστρογόνα και τεστοστερόνη), καθώς και της βιταμίνης D [6]. Ένα ποσοστό της συνολικής χοληστερόλης του ανθρώπινου σώματος προέρχεται από τη διαίτα, ενώ το μεγαλύτερο ποσοστό της παράγεται από τα ηπατοκύτταρα [1, 7]. Αυτή η διαδικασία υπόκειται στο μηχανισμό αρνητικής ανατροφοδότησης (feedback), με αποτέλεσμα η αυξημένη διαιτητική πρόσληψη χοληστερόλης να μειώνει τη σύνθεσή της στο ήπαρ και αντίστροφα [7, 8]. Οι κύριες διαιτητικές πηγές της χοληστερόλης είναι τα ζωικά λίπη [1].

Η χοληστερόλη συντίθεται σε όλα τα κύτταρα του οργανισμού, με το μεγαλύτερο ποσοστό της, περίπου 20-25%, να συντίθεται από τα ηπατοκύτταρα [7]. Η χοληστερόλη που παράγεται στο ήπαρ απεκκρίνεται στο γαστρεντερικό σωλήνα διαμέσου της χολής, της οποίας αποτελεί κύριο συστατικό [7]. Περίπου το 50% της χοληστερόλης που απεκκρίνεται με τη χολή επαναρροφάται από το λεπτό έντερο και επιστρέφει στην κυκλοφορία (εντεροηπατικός κύκλος) [7].

Η βιοσύνθεση της χοληστερόλης αρχίζει με την ένωση ενός μορίου ακετυλ-συνενζύμου A (CoA) και ενός μορίου ακετυλακετυλ-CoA με αποτέλεσμα το σχηματισμό του 3-υδροξυ-3-μεθυλγλουταρυλ-CoA (HMG-CoA) [7]. Το μόριο αυτό ανάγεται από το ένζυμο HMG-CoA αναγωγάση με αποτέλεσμα το σχηματισμό μεβαλονικού οξέος [7]. Το τελευταίο αποτελεί πρόδρομο μόριο όχι μόνο για τη σύνθεση της χοληστερόλης αλλά και των ισοπρενοειδών [γερανυλγερανυλ-πυροφωσφατάση (GGPP) και φαρσενυλ-πυροφωσφατάση (FPP)] [7, 9]. Βασικός ρόλος αυτών των μορίων είναι η ενεργοποίηση ορισμένων τριφωσφατασών της γουανωσίνης (GTPάσες), που διαδραματίζουν σημαντικό

ρόλο σε ποικίλες κυτταρικές λειτουργίες [9, 10]. Το μεταβολικό μονοπάτι βιοσύνθεσης της χοληστερόλης απεικονίζεται στην Εικόνα 1.

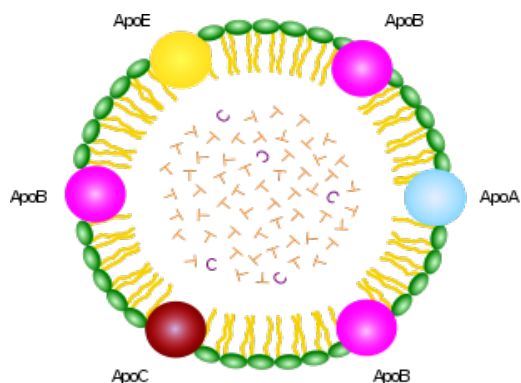


Εικόνα 1. Βιοσύνθεση της χοληστερόλης

1.2 ΛΙΠΟΠΡΩΤΕΪΝΕΣ

1.2.1 Δομή των λιποπρωτεϊνών

Η χοληστερόλη είναι ελάχιστα υδατοδιαλυτή, οπότε κυκλοφορεί στο πλάσμα ως συστατικό σωματιδίων που ονομάζονται λιποπρωτεΐνες [11]. Οι λιποπρωτεΐνες αποτελούνται από μία εξωτερική υδρόφιλη στιβάδα, η οποία απαρτίζεται από φωσfolιπίδια, χοληστερόλη και πρωτεΐνες [απολιποπρωτεΐνες (apo)] και καθιστά τις λιποπρωτεΐνες διαλυτές στο πλάσμα, καθώς και από ένα υδρόφοβο πυρήνα, που αποτελείται από τριγλυκερίδια (TG) και εστέρες χοληστερόλης [11]. Τα δύο αυτά τμήματα διαχωρίζονται μεταξύ τους από ένα στρώμα φωσfolιπιδίων [11] (Εικόνα 2).



Εικόνα 2. Δομή των λιποπρωτεϊνών

Οι λιποπρωτεΐνες διαφέρουν όσον αφορά το μέγεθος, την πυκνότητα, τη χημική σύσταση και τις φυσικοχημικές τους ιδιότητες.

1.2.2 Χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (low-density lipoproteins; LDL)

Παράγονται στη συστηματική κυκλοφορία από τις ενδιάμεσης πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (intermediate-density lipoproteins; IDL) (βλέπε παράγραφο 1.2.3) και μεταφέρουν χοληστερόλη από το ήπαρ στους περιφερικούς ιστούς [12]. Οι LDL αποτελούν τις κατεξοχήν αθηρογόνες λιποπρωτεΐνες [12]. Η αθηρογόνος δράση τους οφείλεται στην ικανότητά τους να διεισδύουν στο αγγειακό τοίχωμα και να συνδέονται με γλυκοζαμινογλυκάνες, οι οποίες αποτελούν τμήμα του εξωκυττάριου υλικού του έσω χιτώνα του τοιχώματος των αγγείων [13]. Η καθήλωση των LDL στον υπενδοθηλιακό χώρο γίνεται διαμέσου της κύριας απολιποπρωτεΐνης τους, της apoB-100 [13, 14]. Στο χώρο αυτό οι LDL υφίστανται οξειδωτική τροποποίηση του μορίου τους από ελεύθερες ρίζες οξυγόνου που παράγονται τοπικά [15]. Οι οξειδωτικά τροποποιημένες LDL επάγουν την παραγωγή χημειοτακτικών [π.χ. του MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1)] και αυξητικών παραγόντων [π.χ. των GM-CSF (granulocyte and monocyte colony stimulation factor)] από παρακείμενα κύτταρα του αγγειακού τοιχώματος [15]. Οι παράγοντες αυτοί προάγουν την είσοδο των κυκλοφορούντων μονοπύρηνων στο αγγειακό τοίχωμα και τη μετατροπή τους σε μακροφάγα, τα οποία επιτείνουν την οξείδωση των LDL [15]. Η πλήρως οξειδωμένη LDL αναγνωρίζεται από ειδικούς υποδοχείς εκκαθαριστές (scavengers) των μακροφάγων [14]. Έτσι, μεγάλες ποσότητες LDL εισέρχονται στα μακροφάγα και αυτά μετατρέπονται σε αφρώδη κύτταρα (foam cells), τα οποία περιέχουν αυξημένες συγκεντρώσεις λίπους στο κυτταρόπλασμά τους. Αυτή η διαδικασία, μάλιστα, αποτελεί το πρώτο βήμα στην παθογένεια της αθηροσκλήρωσης [14, 15]. Η οξειδωμένη LDL έχει άμεση χημειοτακτική δράση και αυξάνει την είσοδο των περιφερικών μονοπύρηνων στο αγγειακό τοίχωμα, ενώ παράλληλα, διεγείρει τη σύνδεσή τους με τα ενδοθηλιακά κύτταρα [14, 15]. Τα μονοκύτταρα που διαπερνούν το ενδοθήλιο παραμένουν στον υπενδοθηλιακό χώρο, καθώς η οξειδωμένη LDL εμποδίζει την έξοδό τους από το αγγειακό τοίχωμα [14, 15]. Επιπλέον, η οξειδωμένη LDL είναι κυτταροτοξική για τα κύτταρα του τοιχώματος των αγγείων και προάγει την απελευθέρωση λιπιδίων και λυσοσωματικών ενζύμων στον εξωκυττάριο χώρο του έσω χιτώνα, με αποτέλεσμα την επιτάχυνση της αθηρωματικής διαδικασίας [14, 15]. Τέλος, η συσσώρευση της οξειδωμένης LDL στο τοίχωμα των αγγείων διαταράσσει τη φυσιολογική λειτουργία του ενδοθηλίου και τη δράση του οξειδίου του αζώτου (NO)[14, 15]. Οι διαταραχές αυτές οδηγούν σε συσσώρευση αιμοπεταλίων και λευκοκυττάρων στο αγγειακό τοίχωμα, καθώς

και σε αγγειόσπασμο, φαινόμενα που διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην παθογένεση των οξέων στεφανιαίων συνδρόμων [14, 15].

Οι LDL αποτελούν ένα ετερογενή πληθυσμό από σωματίδια με διαφορετικό μέγεθος, πυκνότητα και χημική σύσταση (LDL υποκλάσματα)[16]. Η σημασία των επιμέρους σωματιδίων στην παθογένεια της αθηροσκληρωτικής αγγειακής νόσου συζητείται σε επόμενο κεφάλαιο της παρούσας διδακτορικής διατριβής.

1.2.3 Ενδιάμεσης πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (intermediate-density lipoproteins; IDL)

Οι IDL είναι προϊόντα υδρόλυσης των πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών (very low-density lipoproteins; VLDL) από τη λιποπρωτεϊνική λιπάση (lipoprotein lipase; LPL) και αποτελούν πρόδρομα σωματίδια για το σχηματισμό των LDL [11, 17]. Έχουν μικρή διάρκεια ζωής και σε φυσιολογικές συνθήκες δεν ανιχνεύονται στο πλάσμα σε συνθήκες νηστείας [11].

1.2.4 Υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (high-density lipoproteins; HDL)

Παράγονται στο ήπαρ και το λεπτό έντερο [11]. Ο αριθμός και η σύστασή τους εξαρτώνται από: 1) τη σύνθεση μικρών, πλούσιων σε φωσφολιπίδια και απολιποπρωτεΐνες HDL από το ήπαρ και το γαστρεντερικό σωλήνα, 2) τη μεταφορά επιφανειακού υλικού πλούσιου σε φωσφολιπίδια, χοληστερόλη και απολιποπρωτεΐνες από τις πλούσιες σε TG λιποπρωτεΐνες κατά τη διάρκεια του καταβολισμού τους, 3) τη μεταφορά συστατικών των HDL (ιδιαίτερα εστέρων χοληστερόλης) στις πλούσιες σε TG λιποπρωτεΐνες, η οποία εξαρτάται από τη συγκέντρωση των τελευταίων και τη διάρκεια παραμονής τους στο πλάσμα (ετεροανταλλαγή λιπιδίων) και 4) από τη μεταφορά χοληστερόλης από τους περιφερικούς ιστούς και άλλες λιποπρωτεΐνες στις HDL (ανάστροφη μεταφορά χοληστερόλης) [14, 18].

Οι HDL διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη διαδικασία της ανάστροφης μεταφοράς χοληστερόλης από τους ιστούς στο ήπαρ [18, 19], η οποία έχει ως αποτέλεσμα τη δέσμευση της πλεονάζουσας χοληστερόλης των κυττάρων και των αθηρωματικών πλακών και τη μεταφορά της στο ήπαρ [19, 20]. Εκτός από αυτή τους τη δράση που από πολλούς θεωρείται η σημαντικότερη, οι HDL εμφανίζουν ποικίλες άλλες ευεργετικές δράσεις (γνωστές ως πλειοτροπικές) [18, 20, 21]. Συγκεκριμένα, αναστέλλουν την απόπτωση των ενδοθηλιακών κυττάρων και συμβάλλουν στη διαδικασία αποκατάστασης του ενδοθηλίου που έχει υποστεί βλάβη, ενώ παράλληλα βελτιώνουν την αγγειοδιαστολή που εξαρτάται

από το ενδοθήλιο [18, 22, 23]. Επιπλέον, αναστέλλουν την ενεργοποίηση των μονοκυττάρων και μειώνουν την έκφραση των προσκολλητικών μορίων και των κυτταροκινών [18, 21, 24], ενώ εμφανίζουν και αντιθρομβωτική δράση. Αυτή η δράση μπορεί να αποδοθεί σε ποικίλες λειτουργίες των HDL σωματιδίων, όπως είναι η αύξηση της ενεργότητας της πρωτεΐνης S [18], η αναστολή της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων και η ελάττωση της ενεργότητας των αιμοπεταλίων. Η ελαττωμένη ενεργότητα των αιμοπεταλίων πιθανά οφείλεται στην ικανότητα των HDL σωματιδίων να μειώνουν τη συγκέντρωση της χοληστερόλης των κυτταρικών μεμβρανών των αιμοπεταλίων [18, 25]. Οι παραπάνω ιδιότητες, σε συνδυασμό με τις αντιφλεγμονώδεις και αντιοξειδωτικές δράσεις των HDL, καθιστούν τις λιποπρωτεΐνες αυτές ιδιαίτερα αντιαθηρογόνες [18]. Τέλος, υπάρχουν ενδείξεις ότι τα HDL σωματίδια διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη λειτουργία των β-κυττάρων του παγκρέατος και βελτιώνουν την ομοιοστασία των υδατανθράκων [26].

Οι HDL αποτελούνται από σωματίδια με διαφορετικό μέγεθος, πυκνότητα και χημική σύσταση (HDL υποκλάσματα) τα οποία επηρεάζουν διαφορετικά την παθογένεια και εξέλιξη της αθηροσκληρωτικής διαδικασίας [27]. Αρχικά θεωρούνταν ότι τα μεγάλα HDL σωματίδια παρέχουν μεγαλύτερη προστασία όσον αφορά την πρόληψη της καρδιαγγειακής νόσου. Ωστόσο, αρκετές μεταγενέστερες μελέτες έδειξαν ότι οι αντιαθηρογόνες ιδιότητες των HDL αποδίδονται κυρίως στα μικρά HDL σωματίδια, τα οποία αποτελούν πιο αποτελεσματικούς υποδοχείς χοληστερόλης και εμφανίζουν μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα σε σύγκριση με τα μεγαλύτερα HDL σωματίδια [27-31].

1.2.5 Πλούσιες σε TG λιποπρωτεΐνες (χυλομικρά, VLDL και τα κατάλοιπά τους)

Τα χυλομικρά παράγονται στο λεπτό έντερο, το ήπαρ και το λιπώδη ιστό [7]. Είναι μεγάλα, αραιά σωματίδια με μεγάλη περιεκτικότητα σε TG. Συγκεκριμένα, τα TG αποτελούν περισσότερο από το 85% της συνολικής μάζας των χυλομικρών [11]. Η κύρια απολιποπρωτεΐνη τους είναι η apoB-48 [11]. Τα χυλομικρά αποτελούν τον κύριο μεταφορέα των TG στη μεταγευματική φάση [17, 32] και σε φυσιολογικές συνθήκες απομακρύνονται πολύ γρήγορα από την κυκλοφορία [32].

Οι VLDL παράγονται στο ήπαρ και το λιπώδη ιστό [7]. Είναι μεγάλα σωματίδια, πλούσια σε TG, που περιέχουν ως ένα βαθμό εστέρες χοληστερόλης [11]. Η κύρια απολιποπρωτεΐνη τους είναι η apoB-100 [11]. Οι VLDL αποτελούν τον κύριο μεταφορέα των TG στη νηστεία [17].

Τα TG των VLDL και των χυλομικρών υδρολύονται από ένζυμα όπως η LPL [17], με αποτέλεσμα το σχηματισμό των IDL και των καταλοίπων των χυλομικρών, αντίστοιχα [17]. Σε αντίθεση με τα μεγαλύτερα VLDL σωματίδια και τα χυλομικρά, τα μικρότερα κατάλοιπά τους έχουν την ικανότητα να διεισδύουν στον υπενδοθηλιακό χώρο του αγγειακού τοιχώματος, όπως και τα LDL σωματίδια [17, 33, 34]. Ακολούθως τα λιποπρωτεϊνικά κατάλοιπα φαγοκυτταρώνονται από τα μακροφάγα του αγγειακού τοιχώματος, με αποτέλεσμα τη μεταφορά της χοληστερόλης που περιέχουν στο κυτταρόπλασμα των μακροφάγων και το σχηματισμό αφρωδών κυττάρων [35, 36]. Επιπρόσθετα, τα κατάλοιπα των πλούσιων σε TG λιποπρωτεϊνών ευοδώνουν τη ρήξη των αθηρωματικών πλακών [37, 38], ενώ παράλληλα προάγουν τη θρόμβωση αυξάνοντας την έκφραση του ιστικού παράγοντα από το ενδοθήλιο των αγγείων και τα μονοκύτταρα, καθώς και το σχηματισμό θρομβίνης [39, 40].

Η ταχεία συσσώρευση των πλούσιων σε TG καταλοίπων των λιποπρωτεϊνών, που παρατηρείται στη μεταγευματική φάση, έχει συσχετισθεί με διαταραχές της ενδοθηλιοεξαρτώμενης αγγειοδιαστολής [41], καθώς και με αυξημένη έκφραση φλεγμονωδών κυτταροκινών [42], με αποτέλεσμα τη συσσώρευση και ενεργοποίηση των μονοκυττάρων στο αγγειακό τοίχωμα [43]. Επομένως, ακόμα και η μεταγευματική λιπαιμία εμπλέκεται στη διαδικασία της αθηροσκλήρωσης [44].

1.2.6 Λιποπρωτεΐνη (a) [lipoprotein (a); Lp(a)]

Αποτελείται από ένα σωματίδιο LDL και μία αποπρωτεΐνη, την apo(a), η οποία συνδέεται με την apoB-100 με ένα μονήρη δισουλφιδικό δεσμό [14, 45]. Η apo(a) συντίθεται στα ηπατοκύτταρα. Πρέπει να υπογραμμισθεί ότι η Lp(a) δεν συνδέεται σε σημαντικό βαθμό με τους LDL υποδοχείς. Οι δυσμενείς της δράσεις συσχετίζονται τόσο με την ικανότητά της ως LDL σωματίδιο να προάγει την εξέλιξη της αθηρωματικής διαδικασίας στο αγγειακό τοίχωμα, όσο και στην εκλεκτική αναστολή της ινωδόλυσης [14, 46]. Πράγματι, η Lp(a) διεισδύει στο αγγειακό τοίχωμα όπου υφίσταται οξείδωση και μάλιστα κατακρατάται σε μεγαλύτερο βαθμό στο τοίχωμα των αγγείων σε σύγκριση με τα LDL σωματίδια, ιδιαίτερα σε περιοχές αγγειακής βλάβης [14, 46]. Η αναστολή της ινωδόλυσης οφείλεται στη δομική ομοιότητα της apo(a) με το πλασμινογόνο και διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη διαδικασία ρήξης των αθηρωματικών βλαβών, οδηγώντας σε θρόμβωση και απόφραξη του αυλού των αγγείων. Συγκεκριμένα, η apo(a) αναστέλλει τη σύνδεση του πλασμινογόνου με κυτταρικούς υποδοχείς στα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα

μονοπύρηννα, όπου γίνεται η μετατροπή του σε πλασμίνη [14, 46]. Τα αυξημένα επίπεδα της Lp(a) (>30 mg/dL) έχουν συσχετισθεί με την εμφάνιση πρώιμης καρδιαγγειακής νόσου, ιδιαίτερα σε άτομα με δυσλιπιδαιμία, καθώς και με ασβέστωση των στεφανιαίων αγγείων και της αορτικής βαλβίδας [45, 47]. Αξίζει να σημειωθεί ότι η ανεύρεση επιπέδων Lp(a) >50 mg/dL σε άτομα ενδιάμεσου κινδύνου τα κατατάσσει σε άτομα υψηλού κινδύνου.

1.3 ΑΠΟΛΙΠΟΠΡΩΤΕΪΝΕΣ

Οι απολιποπρωτεΐνες είναι συστατικά των λιποπρωτεϊνών του πλάσματος και εμφανίζουν ποικίλες δράσεις, είτε ως συνένζυμα διαφόρων ενζύμων είτε διαμέσου της σύνδεσής τους με συγκεκριμένους υποδοχείς.

1.3.1 ApoA1

Η apoA1 αποτελεί βασικό συστατικό των HDL, ενώ ευρίσκεται και στα χυλομικρά για μικρό χρονικό διάστημα αμέσως μετά τη σύνθεσή τους στο εντερικό τοίχωμα [14, 48]. Η apoA1 των χυλομικρών μεταφέρεται στις HDL μετά τη λιπόλυσή τους από την LPL [48]. Η apoA1 διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στη διαδικασία της ανάστροφης μεταφοράς χοληστερόλης από τους περιφερικούς ιστούς στο ήπαρ, καθώς εμφανίζει μεγάλη χημική συγγένεια με υποδοχείς των κυτταρικών μεμβρανών, ιδιαίτερα με το μεταφορέα ATP-binding cassette transporter 1 (ABCA1) και τον phospholipid transfer protein (PLTP) [49, 50]. Επιπρόσθετα, η apoA1 λειτουργεί ως συνένζυμο της ακετυλοτρανσφεράσης της χοληστερόλης (Lecithin cholesterol acyltransferase; LCAT) διευκολύνοντας έτσι το σχηματισμό εστέρων χοληστερόλης [51, 52]. Οι εστέρες χοληστερόλης συνδέονται με τις άωρες, δισκοειδείς, πλούσιες σε πρωτεΐνες και πτωχές σε λιπίδια HDL (nascent HDL), που παράγονται στο ήπαρ και το λεπτό έντερο, με αποτέλεσμα το σχηματισμό των ώριμων σφαιρικών σωματιδίων των HDL [52]. Παράλληλα, η ικανότητά της να σταθεροποιεί την προστακυκλίνη (PGI₂), η οποία αποτελεί αγγειοδιασταλτικό παράγοντα και αναστολέα της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων, της προσδίδει αντιθρομβωτικές ιδιότητες [53]. Συμπερασματικά, η apoA1 συνεισφέρει σημαντικά στην πρόληψη της αθηροθρόμβωσης, ενώ τα χαμηλά επίπεδά της έχουν συσχετισθεί με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου [54, 55].

1.3.2 ApoB

Αποτελεί το κύριο συστατικό των LDL, καθώς και άλλων αθηρογόνων λιποπρωτεϊνών, όπως οι VLDL [48]. Η apoB των λιποπρωτεϊνών συνδέεται με ποικίλους υποδοχείς των κυτταρικών μεμβρανών αποδίδοντας χοληστερόλη στους ιστούς, συμβάλλοντας έτσι στη διαδικασία της αθηροσκλήρωσης, όπως περιγράφηκε παραπάνω[48].

Οι ισομορφές της apoB που ανευρίσκονται στο πλάσμα είναι η apoB-100, η οποία παράγεται στο ήπαρ και η apoB-48, η οποία παράγεται στο λεπτό έντερο [17, 56]. Όλες οι αθηρογόνες λιποπρωτεΐνες (LDL, VLDL, IDL) περιέχουν apoB-100 [17, 56]. Πράγματι, τα αυξημένα επίπεδα της apoB-100 συσχετίζονται θετικά με τη συγκέντρωση των αθηρογόνων λιποπρωτεϊνών του πλάσματος, καθώς και με αύξηση του κινδύνου εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου [17]. Η apoB-100 εμφανίζει χημική συγγένεια με τους LDL-υποδοχείς των ηπατοκυττάρων, οι οποίοι είναι υπεύθυνοι για την απομάκρυνση των πλούσιων σε apoB-100 λιποπρωτεϊνών από την κυκλοφορία [17]. Όταν είναι αυξημένος ο αριθμός των λιποπρωτεϊνών, οι LDL-υποδοχείς δεν επαρκούν για την απομάκρυνσή τους από το πλάσμα, με αποτέλεσμα να παρατείνεται ο χρόνος παραμονής των αθηρογόνων λιποπρωτεϊνών στην κυκλοφορία [17]. Κάτω από αυτές τις συνθήκες ευνοείται η οξειδωτική τροποποίησή τους, η οποία αυξάνει την αθηρογόνο δράση τους [17]. Επιπρόσθετα, η καθυστέρηση της απομάκρυνσης αυτών των λιποπρωτεϊνών εκθέτει τους ιστούς στην βλαπτική τους επίδραση για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα [17]. Υποδοχείς με υψηλή συγγένεια για την apoB-100 εκφράζονται και από άλλα κύτταρα, όπως είναι τα μακροφάγα, ένα γεγονός που ευνοεί το σχηματισμό αφρωδών κυττάρων [17].

Η apoB-48 αποτελεί δομικό συστατικό των χυλομικρών και των καταλοίπων τους [17]. Τα μακροφάγα φαίνεται ότι εκφράζουν υποδοχείς με υψηλή συγγένεια και για την apoB-48, ενώ νεότερα δεδομένα υποστηρίζουν ότι αυτή η απολιποπρωτεΐνη διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεση της αθηροσκλήρωσης [17].

1.3.3 ApoE

Η apoE παράγεται κατά το μεγαλύτερο ποσοστό της στο ήπαρ, ενώ βρίσκεται και σε άλλους ιστούς, όπως είναι ο εγκέφαλος, οι νεφροί και ο σπλήνας [57, 58]. Η apoE αποτελεί βασικό συστατικό των πλούσιων σε TG λιποπρωτεϊνών (χυλομικρά, VLDL, IDL) και διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στην απομάκρυνση των καταλοίπων τους (IDL και

κατάλοιπα των χυλομικρών) από την κυκλοφορία, διαμέσου της σύνδεσής της με υποδοχείς των ηπατοκυττάρων [LDL-υποδοχέας, Remnant-like lipoprotein receptor (RLP)] [57, 58].

1.3.4 ApoC-II

Η apoC-II παράγεται κυρίως στο ήπαρ και σε μικρότερο βαθμό στο λεπτό έντερο [59-61] και αποτελεί συστατικό των χυλομικρών, των VLDL, των LDL και των HDL [62]. Σε νορμολιπιδαιμικά άτομα η συγκέντρωσή της είναι περίπου 4 mg/dL και φυσιολογικά ενεργοποιεί την LPL [63]. Τόσο τα υψηλά επίπεδά της στο πλάσμα όσο και η ανεπάρκειά της συσχετίζονται με μειωμένη ενεργότητα της LPL, ένα γεγονός που οδηγεί σε αύξηση των επιπέδων των TG [64-66]. Η αυξημένη συγκέντρωση της apoC-II συσχετίζεται επίσης με μεταβολές της κατανομής των HDL σωματιδίων, συγκεκριμένα με αύξηση των επιπέδων της pre-beta1-HDL και των μικρών-πυκνών HDL3b και HDL3a σωματιδίων, καθώς και με μείωση των μεγάλων HDL2a and HDL2b σωματιδίων [67]. Αυτό το εύρημα πιθανά έχει κλινική σημασία, δεδομένου ότι ασθενείς με στεφανιαία νόσο (ΣΝ) εμφανίζουν υψηλότερα επίπεδα pre-beta1-HDL και HDL3a σε σύγκριση με υγιείς μάρτυρες [68]. Επιπρόσθετα, η apoC-II εκφράζεται σε αθηρωματικές πλάκες, όπου εντοπίζεται κοντά σε μακροφάγα και σχηματίζει ινίδια αμυλοειδούς [69]. Τα τελευταία έχουν φλεγμονώδεις ιδιότητες και πιθανά συμμετέχουν στη διαδικασία της αθηροσκλήρωσης [70]. Τέλος, σε μία μελέτη, στην οποία συμμετείχαν 353 ασθενείς με ΣΝ και 395 υγιή άτομα, τα επίπεδα της apoC-II ήταν σημαντικά υψηλότερα στους στεφανιαίους ασθενείς [71].

1.3.5 ApoC-III

Η apoC-III είναι μία γλυκοπρωτεΐνη μάζας 8,8 kDa, η οποία εκκρίνεται κυρίως από το ήπαρ και σε μικρότερο βαθμό από το λεπτό έντερο [72]. Αποτελεί συστατικό των πλούσιων σε TG λιποπρωτεϊνών και των HDL και ανταλλάσσεται ελεύθερα μεταξύ των λιποπρωτεϊνών [62]. Αναστέλλοντας τη LPL και την ηπατική λιπάση, η apoC-III αναστέλλει τη λιπόλυση των πλούσιων σε TG λιποπρωτεϊνών και κατά συνέπεια μειώνει την πρόσληψη αυτών των σωματιδίων από τους ηπατικούς υποδοχείς [73, 74]. Επομένως, άτομα με υψηλά επίπεδα apoC-III εμφανίζουν υπερτριγλυκεριδαμία. Τα επίπεδα της apoC-III πιθανά αποτελούν προγνωστικό παράγοντα για την εμφάνιση καρδιαγγειακών συμβαμάτων σε ασθενείς με ΣΝ ή σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 (ΣΔ2) [75-78]. Πράγματι,

σε μία υποανάλυση της μελέτης Cholesterol and Recurrent Events (CARE) στην οποία συμμετείχαν ασθενείς με έμφραγμα του μυοκαρδίου ή στεφανιαίο θάνατο και άτομα χωρίς καρδιαγγειακή νόσο (ομάδα ελέγχου), η apoC-III των VLDL και LDL σωματιδίων ήταν ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας κινδύνου για την εμφάνιση καρδιαγγειακών συμβαμάτων [79].

1.4 ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΛΙΠΟΠΡΩΤΕΪΝΩΝ

Το διαιτητικό λίπος, μετά την απορρόφησή του από το γαστρεντερικό σωλήνα, ενσωματώνεται στα πλούσια σε TG χυλομικρά [80], τα οποία στην κυκλοφορία προσλαμβάνουν την apoC-II από τις HDL [81]. Τα χυλομικρά καταβολίζονται με τη βοήθεια της LPL, η οποία βρίσκεται στα τριχοειδή των σκελετικών μυών και του λιπώδους ιστού [82]. Το ένζυμο αυτό υδρολύει TG των χυλομικρών με αποτέλεσμα την απελευθέρωση λιπαρών οξέων, τα οποία είτε αποθηκεύονται στο λιπώδη ιστό είτε χρησιμοποιούνται για την κάλυψη των ενεργειακών αναγκών. Τα κατάλοιπα (remnants) των χυλομικρών που προκύπτουν προσλαμβάνονται από τα παρεγχυματικά κύτταρα του ήπατος [83]. Τα κύτταρα αυτά έχουν μία πρωτεΐνη, η οποία συσχετίζεται με τον υποδοχέα των LDL (LDL receptor related protein I; LRP ή chylomicron remnant receptor) και συνδέεται με την apoE [84]. Το λιπιδικό συστατικό των καταλοίπων των χυλομικρών είτε αποθηκεύεται στα ηπατοκύτταρα, είτε καταβολίζεται, είτε επανεκκρίνεται από αυτά ως βασικό συστατικό των ενδογενών πλούσιων σε TG λιποπρωτεϊνών, δηλαδή των VLDL [84]. Συγκεκριμένα, τα TG συντίθενται στο ήπαρ από ελεύθερα λιπαρά οξέα και γλυκερόλη και συνδεόμενα με την apoB-100, φωσφολιπίδια και χοληστερόλη σχηματίζουν τα VLDL σωματίδια.

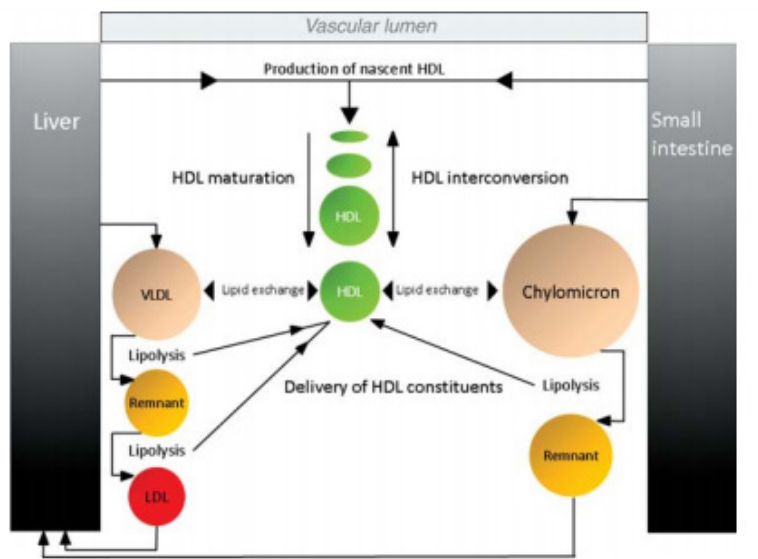
Η ηπατική παραγωγή των λιποπρωτεϊνών εξαρτάται από την παροχή γλυκόζης και λιπαρών οξέων στα ηπατοκύτταρα και επηρεάζεται σημαντικά από ορμονικούς παράγοντες, κυρίως από την ινσουλίνη [84]. Όπως και τα χυλομικρά, οι VLDL καταβολίζονται στην κυκλοφορία από την LPL. Όπως αναφέρθηκε, το ένζυμο αυτό ενεργοποιείται από την apoC-II, ενώ η apoC-III αναστέλλει τη δραστηριότητά του [85]. Με την επίδραση της LPL, οι VLDL μετατρέπονται στις ενδιάμεσης πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (IDL), οι οποίες αναφέρονται στη βιβλιογραφία και ως κατάλοιπα των VLDL. Οι IDL είναι σχετικά πλούσιες σε χοληστερόλη και ένα μέρος τους προσλαμβάνεται άμεσα από τα ηπατοκύτταρα διαμέσου υποδοχέων που συνδέονται με την

apoE (κατά πάσα πιθανότητα πρόκειται για τους ίδιους υποδοχείς που αναγνωρίζουν την apoB των LDL). Οι υπόλοιπες IDL υφίστανται την επίδραση της ηπατικής λιπάσης [86] και μετατρέπονται σε LDL [87]. Οι LDL είναι πλούσιες σε χοληστερόλη και πτωχές σε TG, έχουν ως κύρια πρωτεΐνη την apoB-100 και χρησιμεύουν για τη μεταφορά της χοληστερόλης στο πλάσμα.

Οι LDL μεταβολίζονται διαμέσου των LDL υποδοχέων, οι οποίοι υπάρχουν κυρίως στα ηπατοκύτταρα και αναγνωρίζουν την apoB-100, την κύρια πρωτεΐνη που υπάρχει στην επιφάνεια των LDL [88]. Ο αριθμός και η δραστηριότητα των LDL υποδοχέων είναι καθοριστικής σημασίας για τη ρύθμιση της συγκέντρωσης των LDL στο πλάσμα. Έτσι, η ελάττωση της δραστηριότητας των LDL υποδοχέων έχει ως αποτέλεσμα όχι μόνο την ελάττωση του καταβολισμού των LDL, αλλά και την αύξηση της σύνθεσής τους από τις IDL, αφού μικρότερο κλάσμα των τελευταίων καταβολίζεται διαμέσου των LDL υποδοχέων. Ο αριθμός και η δραστηριότητα των LDL υποδοχέων εξαρτώνται από τα επίπεδα της ελεύθερης χοληστερόλης στα ηπατοκύτταρα [89]. Πράγματι, η μείωση της ενδοκυττάριας συγκέντρωσης χοληστερόλης που οφείλεται στη χορήγηση υπολιπιδαιμικών φαρμάκων (π.χ. στατινών, ρητινών δέσμευσης χολικών οξέων), έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της δραστηριότητας των LDL υποδοχέων και του καταβολισμού των LDL και των καταλοίπων των VLDL.

Οι HDL παράγονται στο ήπαρ και το έντερο ή προέρχονται από τον καταβολισμό των πλούσιων σε TG λιποπρωτεϊνών και διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στο μηχανισμό της ανάστροφης μεταφοράς χοληστερόλης [90]. Ο μηχανισμός αυτός αφορά στη δέσμευση της πλεονάζουσας χοληστερόλης των κυττάρων και των αθηρωματικών πλακών από τις HDL. Η μετακίνηση της χοληστερόλης από τα κύτταρα στις ανώριμες HDL γίνεται διαμέσου των ABCA1 μεταφορέων που εκφράζονται στην επιφάνεια των κυττάρων. Στη συνέχεια η ελεύθερη χοληστερόλη εστεροποιείται με την επίδραση της LCAT [52]. Η εστεροποιημένη χοληστερόλη μεταφέρεται διαμέσου του ενζύμου που μεταφέρει εστέρες χοληστερόλης (Cholesterylester Transfer Protein; CETP) σε άλλες πλούσιες σε TG λιποπρωτεΐνες και διαμέσου αυτών, είτε στα ηπατοκύτταρα είτε στα περιφερικά κύτταρα για τη στεροειδογένεση [91]. Μελέτες έδειξαν ότι συγκεκριμένοι υποδοχείς που βρίσκονται στην επιφάνεια αρκετών κυττάρων, μεταξύ των οποίων και τα ηπατοκύτταρα, οι scavenger receptors class B type I (SR-B1) διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στην άμεση μεταφορά εστέρων χοληστερόλης από τις HDL στα ηπατοκύτταρα [92].

Ο μεταβολισμός των λιποπρωτεϊνών απεικονίζεται συνοπτικά στην Εικόνα 3.



Εικόνα 3. Μεταβολισμός των λιποπρωτεϊνών

1.5 ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΤΟΥ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ ΤΩΝ ΛΙΠΟΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΚΑΙ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΗ ΝΟΣΟΣ

Οι διαταραχές του μεταβολισμού των λιποπρωτεϊνών (δυσλιπιδαιμία) περιλαμβάνουν τα αυξημένα επίπεδα της LDL-C, της VLDL-C, των TG και της apoB, καθώς και τα μειωμένα επίπεδα της HDL-C και της apoA1. Είναι γνωστό από μεγάλες μελέτες παρατήρησης στο γενικό πληθυσμό ότι η δυσλιπιδαιμία αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους τροποποιήσιμους ανεξάρτητους παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου [93, 94]. Μάλιστα, τόσο η ολική χοληστερόλη (TC) όσο και η HDL-C λαμβάνονται υπόψη στα πιο δημοφιλή score αξιολόγησης του καρδιαγγειακού κινδύνου (π.χ το Framingham Risk Score 10ετούς κινδύνου εμφάνισης στεφανιαίας νόσου και το Ευρωπαϊκό SCORE αξιολόγησης του 10ετούς κινδύνου εμφάνισης θανατηφόρας καρδιαγγειακής νόσου) [93, 95].

Έχει υπολογισθεί ότι ο κίνδυνος εμφάνισης ΣΝ αυξάνεται κατά περίπου 1% για κάθε αύξηση των επιπέδων της LDL-C κατά 1 mg/dL και, αντίστοιχα, ελαττώνεται κατά το ίδιο ποσοστό για κάθε μείωση των επιπέδων της LDL-C κατά 1 mg/dL [96]. Επιπρόσθετα, ο κίνδυνος εμφάνισης ΣΝ μειώνεται κατά 2% στους άνδρες και κατά 3% στις γυναίκες για κάθε αύξηση των επιπέδων της HDL-C κατά 1 mg/dL [27, 97]. Πρέπει επίσης να αναφερθεί ότι με κάθε ελάττωση των επιπέδων της TC κατά 10%, η ολική και η καρδιαγγειακή θνητότητα μειώνονται κατά 1,1% και 1,5%, αντίστοιχα [98]. Τέλος,

μεγάλες επιδημιολογικές μελέτες έδειξαν ότι τα αυξημένα επίπεδα των TG, τόσο στη νηστεία όσο και μεταγευματικά, συσχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών συμβαμάτων [99-102].

Μία από τις πιο σημαντικές μελέτες παρατήρησης που εκτίμησαν την προγνωστική αξία των λιπιδαιμικών παραμέτρων για την εμφάνιση εμφράγματος του μυοκαρδίου ήταν η μελέτη Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC), στην οποία συμμετείχαν 12.339 άτομα χωρίς ιστορικό ΣΝ. Η διάρκεια παρακολούθησης ήταν 10 έτη [94]. Στη μελέτη αυτή τα αυξημένα επίπεδα της LDL-C και της Lp(a), καθώς και τα χαμηλά επίπεδα της HDL-C, είχαν ανεξάρτητη προγνωστική αξία για την εμφάνιση εμφράγματος του μυοκαρδίου. Αντίθετα, τα αυξημένα επίπεδα των TG είχαν την ίδια προγνωστική αξία μόνο στις γυναίκες [94].

Η ανισορροπία ανάμεσα στη συγκέντρωση των αθηρογόνων (LDL, VLDL, IDL) και των αντιαθηρογόνων (HDL) λιποπρωτεϊνών, όπως αυτή εκφράζεται από διάφορα αθηρωματικά πηλικά (TC/HDL-C, LDL-C/HDL-C και apoA1/apoB), ενδέχεται να αποτελεί σημαντικότερο προγνωστικό δείκτη για την εμφάνιση καρδιαγγειακών συμβαμάτων σε σύγκριση με τα επίπεδα της χοληστερόλης των διαφόρων λιποπρωτεϊνών [103, 104]. Για παράδειγμα, στη μελέτη INTERHEART, στην οποία συμμετείχαν 15.152 ασθενείς με έμφραγμα του μυοκαρδίου και 14.820 υγιείς μάρτυρες, το αθηρωματικό πηλίκο apoB/apoA1 αποτελούσε ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση εμφράγματος του μυοκαρδίου [103]. Παράλληλα, μία ανεξάρτητη συσχέτιση των αθηρωματικών πηλίκων apoB/apoA1 και TC/HDL-C με τον κίνδυνο εμφάνισης ισχαιμικού αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου (ΑΕΕ) παρατηρήθηκε στη μελέτη Apolipoprotein Mortality Risk Study (AMORIS), στην οποία συμμετείχαν 148.600 άτομα του γενικού πληθυσμού.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

2.1 ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ ΚΑΙ ΛΙΠΩΔΗΣ ΙΣΤΟΣ

2.1.1 Ορισμός της παχυσαρκίας

Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (ΠΟΥ) ορίζει την παχυσαρκία με βάση το δείκτη μάζας σώματος (body mass index, BMI, πίνακας 1):

$$\text{BMI} = \text{σωματικό βάρος (ΣΒ) (kg)/ύψος (m)}^2$$

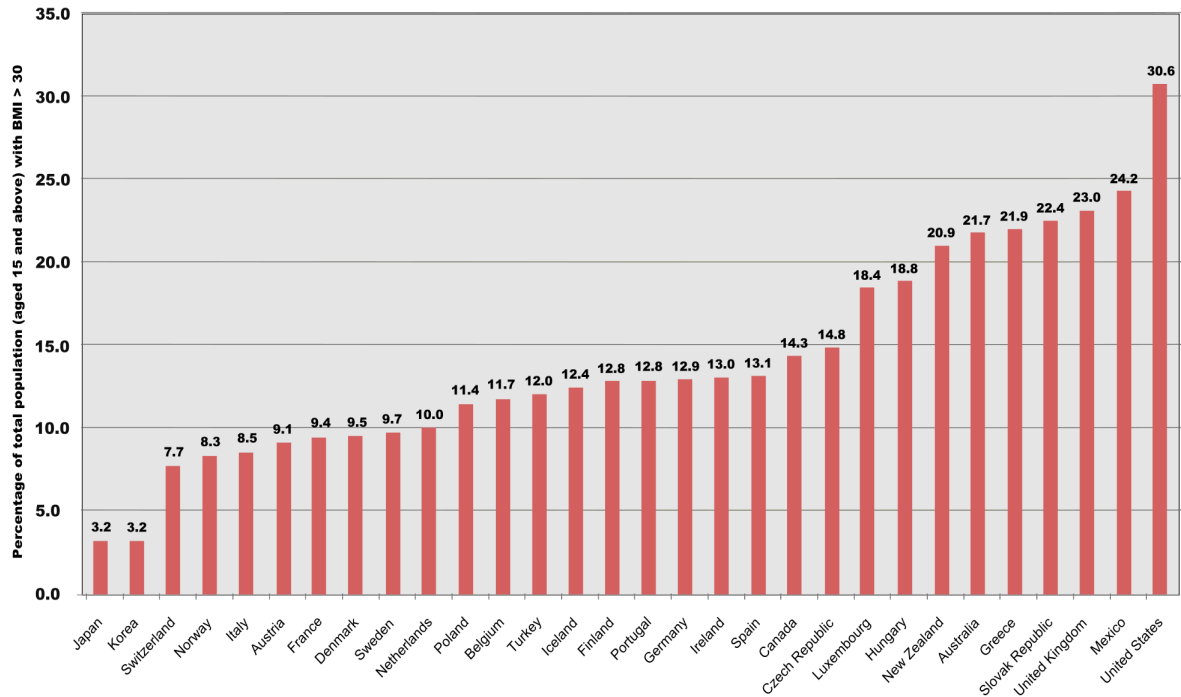
Πίνακας 1. Ταξινόμηση του σωματικού βάρους σύμφωνα με τον ΠΟΥ

	BMI (kg/m ²)
Μειωμένο ΣΒ	
Σοβαρή υποθρεψία	<16
Μετρίου βαθμού υποθρεψία	16-16.9
Ήπιου βαθμού υποθρεψία	17-18.4
Φυσιολογικό σωματικό βάρος	18.5-24.9
Υπέρβαροι ασθενείς	25-29.9
Παχυσαρκία	≥30
Παχυσαρκία βαθμού 1	30-34.9
Παχυσαρκία βαθμού 2	34.9-39.9
Παχυσαρκία βαθμού 3	≥40

Πηγή: WHO. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation. WHO Technical Report Series 894. Geneva: World Health Organization, 2000

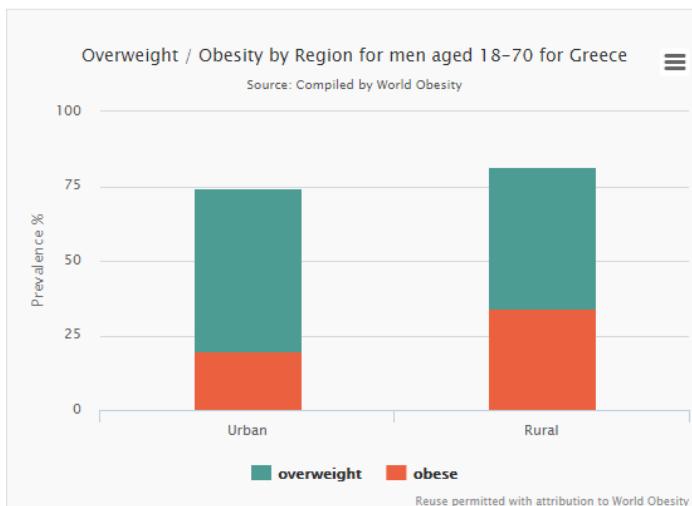
2.1.2 Επιπολασμός της παχυσαρκίας

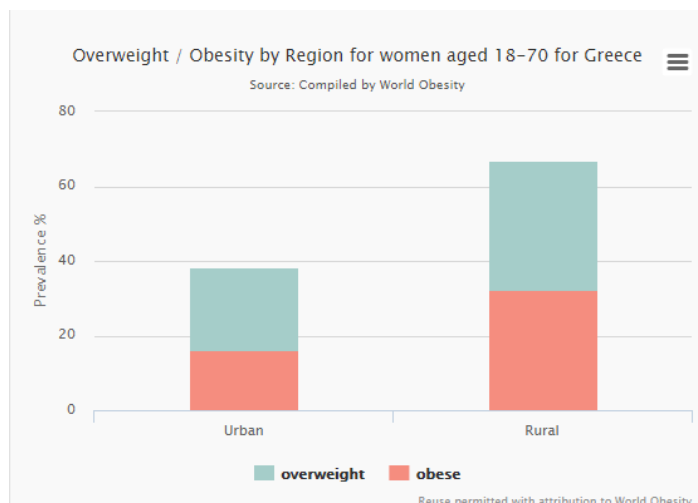
Ο επιπολασμός της παχυσαρκίας έχει αυξηθεί σημαντικά τα τελευταία χρόνια σε όλες τις χώρες του δυτικού κόσμου, όχι μόνο στους ενήλικες, αλλά και στα παιδιά και τους εφήβους [105, 106]. Αυτό είναι ιδιαίτερα ανησυχητικό, δεδομένου ότι περίπου το 90% των παχύσαρκων παιδιών γίνονται παχύσαρκοι ενήλικες, ενώ αυξάνεται ο κίνδυνος πρόωμης εμφάνισης αθηροσκλήρωσης και ΣΔ2 [107]. Στην Ελλάδα το πρόβλημα είναι πιο έντονο σε σύγκριση με πολλές άλλες ευρωπαϊκές χώρες (Εικόνα 4).



Εικόνα 4. Επιπολασμός της παχυσαρκίας στην Ευρωπαϊκή Ένωση (πηγή Organization for Economic Co-operation and Development, OECD)

Σύμφωνα με δεδομένα του ΠΟΥ και της Παγκόσμιας Ομοσπονδίας Παχυσαρκίας τα εκτιμώμενα ποσοστά παχυσαρκίας για την Ελλάδα το 2010 και το 2014 ήταν 21,3% και 21,9%, αντίστοιχα, ενώ το 2025 το ποσοστό αυτό αναμένεται να φτάσει το 23,6% [108]. Συνυπολογίζοντας και τους υπέρβαρους ασθενείς το ποσοστό αυτό αγγίζει το 78,6% για τους άντρες και το 74,7% για τις γυναίκες σύμφωνα με δεδομένα του 2015 [108]. Ο επιπολασμός της παχυσαρκίας φαίνεται ότι είναι μεγαλύτερος στις αγροτικές σε σύγκριση με τις αστικές περιοχές [109] (Εικόνα 5).





Εικόνα 5. Επιπολασμός της παχυσαρκίας σε αγροτικές και αστικές περιοχές στην Ελλάδα

2.1.3 Προβλήματα υγείας σχετιζόμενα με την παχυσαρκία

Η παχυσαρκία έχει συσχετισθεί με την παρουσία διαφόρων παραγόντων κινδύνου για την εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου, καθώς και με άλλα προβλήματα υγείας [110-117] (Πίνακας 2). Συγκεκριμένα, η παχυσαρκία αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης διαταραχής ανοχής στη γλυκόζη και ΣΔ2 [118], ενώ έχει δυσμενή επίδραση στο μεταβολισμό των λιπιδίων [119]. Ειδικότερα, οι παχύσαρκοι ασθενείς συνήθως έχουν υψηλά επίπεδα TC, LDL-C και κυρίως των ιδιαίτερα αθηρογόνων μικρών πυκνών LDL (small dense LDL; sdLDL) σωματιδίων, TG και apoB και χαμηλά επίπεδα HDL-C και apoA-I (η δυσλιπιδαιμία της παχυσαρκίας αναλύεται παρακάτω) [119]. Επιπλέον, ένα σημαντικό ποσοστό των ατόμων με παχυσαρκία εμφανίζει αρτηριακή υπέρταση (AY), αλβουμινουρία, υπερτροφία των αριστερών καρδιακών κοιλοτήτων, συστολική και διαστολική δυσλειτουργία της καρδιάς (καρδιακή ανεπάρκεια) [120, 121], ενώ πρόσφατα δεδομένα δείχνουν ότι η παχυσαρκία αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης χρόνιας νεφρικής νόσου (XNN) ακόμα και σε άτομα χωρίς άλλους παράγοντες κινδύνου [117]. Τέλος, η παχυσαρκία χαρακτηρίζεται από αύξηση των δεικτών φλεγμονής και θρομβωτική διάθεση, ενώ έχει συσχετισθεί με το σύνδρομο άπνοιας ύπνου, την οστεοαρθρίτιδα και ορισμένες μορφές καρκίνου (π.χ. παχέος εντέρου) [115, 122].

Πίνακας 2. Προβλήματα υγείας που σχετίζονται με την παχυσαρκία

Αντίσταση στη δράση της ινσουλίνης

- Διαταραχή ανοχής στη γλυκόζη
- ΣΔ2

Αρτηριακή Υπέρταση (ΑΥ)

Δυσλιπιδαιμία

- Αύξηση TC, TG, LDL-C, apoB, sdLDL σωματιδίων
- Μείωση HDL-C και apoA1

Υπερτροφία αριστεράς κοιλίας

Συστολική και διαστολική δυσλειτουργία

Στεφανιαία Νόσος (ΣΝ)

Χρόνια Νεφρική Νόσος (ΧΝΝ)

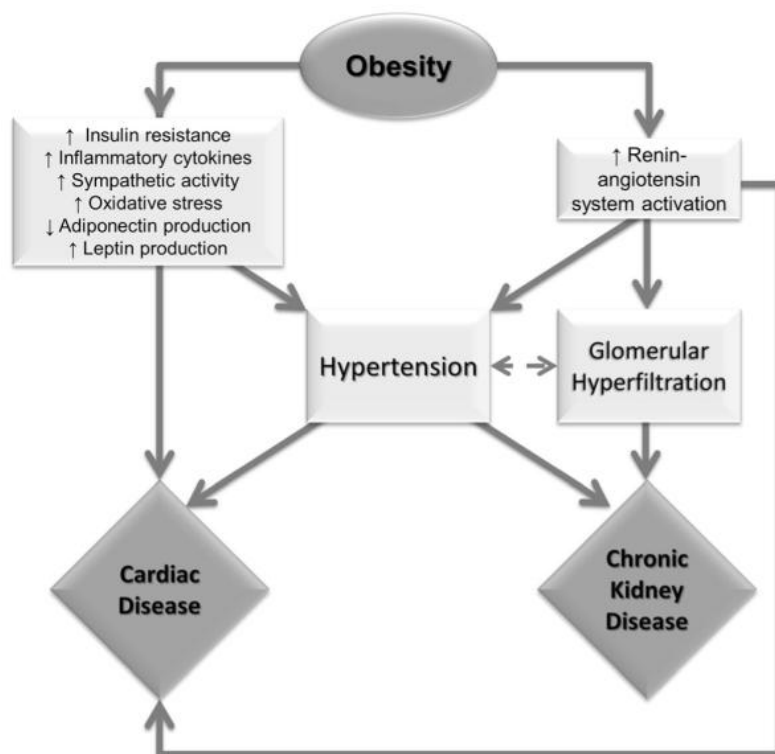
Δυσλειτουργία του ενδοθηλίου

Αύξηση δεικτών φλεγμονής και προδιάθεσης για θρομβώσεις

Άλλες καταστάσεις

- Κολπική μαρμαρυγή
 - Σύνδρομο άπνοιας ύπνου
 - Αλβουμινουρία
 - Οστεοαρθρίτιδα
 - Διάφορες μορφές καρκίνου (π.χ. παχέος εντέρου)
-

Οι υποκείμενοι παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί για τις περισσότερες από τις παραπάνω διαταραχές είναι η αντίσταση στην ινσουλίνη, η αυξημένη παραγωγή φλεγμονωδών κυτταροκινών, η διέγερση του συμπαθητικού νευρικού συστήματος και του συστήματος ρενίνης-αγγειοτενσίνης-αλδοστερόνης, η μείωση της αδιπονεκτίνης, καθώς και η αύξηση της λεπτίνης και του οξειδωτικού στρες [123-125](Εικόνα 6).



Εικόνα 6. Προτεινόμενοι παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί για τη συσχέτιση της παχυσαρκίας με την καρδιαγγειακή και τη χρόνια νεφρική νόσο

2.1.4 Μέθοδοι εκτίμησης της παχυσαρκίας

Σε μία μεγάλη μελέτη σε 360.000 άτομα από 9 ευρωπαϊκές χώρες τόσο η γενικευμένη παχυσαρκία (που εκτιμήθηκε με τον αυξημένο BMI) όσο και η σπλαγχνική παχυσαρκία (που εκτιμήθηκε με την αυξημένη περίμετρο μέσης) συσχετίσθηκε με τον κίνδυνο θανάτου από καρδιαγγειακή νόσο [126]. Ωστόσο, ο κίνδυνος εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου είναι μεγαλύτερος όταν η περίσσεια του λιπώδους ιστού κατανέμεται κυρίως στην κοιλιακή χώρα (σπλαγχνική παχυσαρκία) [126, 127].

Κατά καιρούς έχουν προταθεί διάφορες μέθοδοι για την εκτίμηση της παχυσαρκίας. Τα κριτήρια του National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III (NCEP ATPIII) χρησιμοποιούν την περίμετρο μέσης, διότι σύμφωνα με δεδομένα από τις μελέτες INTERHEART [103] και International Day for the Evaluation of Abdominal Obesity survey (IDEA) [111], οι δείκτες που εκτιμούν το ΣΒ, όπως ο BMI, έχουν μικρότερη ευαισθησία όσον αφορά την πρόγνωση εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου σε σύγκριση με τους δείκτες που εκτιμούν τη σπλαγχνική παχυσαρκία, όπως η περίμετρος μέσης. Η

περίμετρος μέσης αποτελεί έμμεσο δείκτη τόσο του σπλαχνικού όσο και του υποδόριου ενδοκοιλιακού λίπους [128]. Το ενδοκοιλιακό σπλαχνικό λίπος πιθανά αποτελεί τον καλύτερο δείκτη εκτίμησης των μεταβολικών και καρδιαγγειακών επιπλοκών της παχυσαρκίας.

2.1.5 Δομή και λειτουργίες του λιπώδους ιστού

Φυσιολογικά, ο λιπώδης ιστός συνιστά το 10-20% του σωματικού βάρους του σώματος στους άνδρες και το 20-30% στις γυναίκες [129, 130]. Στα παχύσαρκα άτομα το ποσοστό αυτό είναι μεγαλύτερο και σε περιπτώσεις με πολύ υψηλό BMI ξεπερνά το 60-70% του σωματικού βάρους. Αποτελείται κυρίως από λιποκύτταρα, τα οποία συνιστούν το 35-70% του ιστού, καθώς και από προ-λιποκύτταρα (μη διαφοροποιημένοι ινοβλάστες), ενδοθηλιακά κύτταρα και κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, όπως ουδετερόφιλα, μακροφάγα, μαστοκύτταρα, κύτταρα-φονείς, CD4 και CD8 T-λεμφοκύτταρα [131]. Ο λιπώδης ιστός χαρακτηρίζεται επίσης από ένα πλούσιο δίκτυο αγγείων και νεύρων και βρίσκεται σε συνεχή αλληλεπίδραση με άλλους ιστούς και όργανα, όπως το ήπαρ, οι μύες, ο εγκέφαλος, το πάγκρεας, τα οστά, το ενδοθήλιο, το αναπαραγωγικό και ανοσοποιητικό σύστημα [131]. Διακρίνεται σε υποδόριο και σπλαχνικό λιπώδη ιστό, καθένας από τους οποίους έχει διαφορετικές λειτουργίες. Στους ενήλικες επικρατεί ο λευκός λιπώδης ιστός, αν και σε ορισμένες περιπτώσεις ανευρίσκεται και φαιός λιπώδης ιστός, σε πολύ μικρότερη αναλογία, του οποίου ο βασικός ρόλος είναι η θερμογένεση.

Παλαιότερα θεωρούνταν ότι ο λιπώδης ιστός είναι μεταβολικά αδρανής έχοντας ως μοναδικούς ρόλους την αποθήκευση της πλεονάζουσας ενέργειας με τη μορφή TG και τη μόνωση ή/και την υποστήριξη γειτονικών ιστών [132, 133].

Ωστόσο, είναι πλέον σαφές ότι τα σπλαχνικά λιποκύτταρα είναι μεταβολικά ενεργά και εμπλέκονται στην αθηρωματική διαδικασία. Υπέρ αυτού συνηγορεί το γεγονός ότι η παχυσαρκία αποτελεί παράγοντα καρδιαγγειακού κινδύνου ανεξάρτητα από την επίδρασή της στην αρτηριακή πίεση, το λιπιδαιμικό προφίλ και την εμφάνιση ΣΔ. Πράγματι, ο λιπώδης ιστός θεωρείται πλέον ένας ενεργός ενδοκρινής και αυτοκρινής αδένας [134]. Επιπλέον, η παχυσαρκία χαρακτηρίζεται συχνά από δυσλειτουργία του λιπώδους ιστού.

Τα σπλαχνικά λιποκύτταρα έχουν μεγάλο μέγεθος και παράγουν διάφορες ουσίες, όπως κυτταροκίνες, μη εστεροποιημένα λιπαρά οξέα και αναστολέα της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (platelet activator inhibitor-I, PAI-I) [135-139]. Από τις κυτταροκίνες, ο παράγοντας νέκρωσης των όγκων (Tumor Necrosis Factor alpha; TNF- α) και η

ιντερλευκίνη 6 (IL-6) διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην εμφάνιση ΑΥ, δυσλιπιδαιμίας, μικροαλβουμινουρίας και υπερπηκτικότητας [140].

2.1.6 Η λιπογένεση

Η λιποκυτταρογένεση ή λιπογένεση (adipogenesis) είναι η δυναμική διαδικασία διαφοροποίησης των προ-λιποκυττάρων σε ώριμα λιποκύτταρα. Είναι μια σύνθετη διαδικασία που βρίσκεται κάτω από την επίδραση ορμονικών ερεθισμάτων, κυτταροκινών, επάρκειας θρεπτικών συστατικών ή φαρμάκων και υπόκειται στον έλεγχο μεταγραφικών παραγόντων, οι οποίοι ενεργοποιούνται διαδοχικά [141]. Κυριότεροι παράγοντες θεωρούνται οι peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR)- γ και CCAAT-enhancer-binding protein (C/EBP)- α , ενώ αρκετοί ακόμη προάγουν ή αναστέλλουν τη λιπογένεση [141, 142]. Παράγοντες που διεγείρουν την λιπογένεση είναι τα γλυκοκορτικοειδή, το ένζυμο 11- β -υδροξυστερο-αφυδρογονάση, η ινσουλίνη, η γλυκόζη, η τετραϊοδωθυρονίνη και ορισμένα, πολυακόρεστα κυρίως, λιπαρά οξέα. Αξίζει να σημειωθεί ότι ακόμα και προϊόντα των ίδιων των λιποκυττάρων, όπως η αδιπονεκτίνη, προάγουν τη λιπογένεση. Αντίθετα, η λεπτίνη, ο TNF- α , οι ιντερλευκίνες IL-1, IL-6, IL-11, η ιντερφερόνη (INF)- γ , ορισμένα λιπαρά οξέα μέσης αλύσου και η αντιρετροϊκή θεραπεία αναστέλλουν τη λιπογένεση [141].

2.1.7 Μεταβολικές διαδικασίες στο λιποκύτταρο

Τα λιποκύτταρα συσσωρεύουν και αποθηκεύουν λιπαρά οξέα με τη μορφή TG σε περιόδους περίσσειας ενέργειας, ενώ απελευθερώνουν λιπαρά οξέα σε συνθήκες ανεπάρκειας τροφής και θερμιδικού ελλείμματος. Τα επίπεδα των TG του λιποκυττάρου καθορίζονται από τη λιπόλυση, την υδρόλυση δηλαδή των TG, την πρόσληψη λιπαρών οξέων και την de novo λιπογένεση. Δυσλειτουργία σε κάποια από αυτές τις διαδικασίες μπορεί να προκαλέσει αύξηση των TG του ορού και των ελεύθερων λιπαρών οξέων [141]. Στους ανθρώπους τα TG προσλαμβάνονται από τα λιποκύτταρα διαμέσου της κυκλοφορίας. Η ικανότητα του ιστού για de novo λιπογένεση, δηλαδή η ενζυμική-βιοχημική διαδικασία σχηματισμού λιπαρών οξέων από μη λιπιδικά πρόδρομα μόρια όπως υδατάνθρακες, ιδιαίτερα στο ήπαρ [143], έχει ελάχιστη συνδρομή στη σύνθεση TG στον ανθρώπινο οργανισμό. Εξαιρεση αποτελεί η υπερθερμιδική διατροφή που είναι πλούσια σε υδατάνθρακες [143]. Η πρόσληψη των TG, που προέρχονται από τη διατροφή ή από τη de novo λιπογένεση στο ήπαρ, από τα λιποκύτταρα γίνεται αφού πρώτα υδrolυθούν σε

λιπαρά οξέα και γλυκερόλη από τη λιποπρωτεϊνική λιπάση (lipoprotein lipase; LPL). Στο εσωτερικό του κυττάρου σχηματίζουν και πάλι TG συνδεόμενα εκ νέου με γλυκερόλη. Η λιπόλυση πραγματοποιείται όταν υπάρχει ανάγκη για κατανάλωση ενέργειας [144-146]. Σε αυτή τη διαδικασία συμμετέχουν διαδοχικά τρία ένζυμα. Αρχικά η τριγλυκεριδική λιπάση του λιπώδους ιστού υδρολύει το TG σε διγλυκερίδιο και ένα λιπαρό οξύ. Στη συνέχεια η ορμονοευαίσθητη λιπάση καταλύει την υδρόλυση του διγλυκεριδίου σε μονογλυκερίδιο και ένα λιπαρό οξύ. Τέλος, με την επίδραση της μονογλυκεριδικής λιπάσης προκύπτει ένα μόριο γλυκερόλης και το τρίτο λιπαρό οξύ [145]. Τα μη εστεροποιημένα ελεύθερα λιπαρά οξέα απελευθερώνονται στην κυκλοφορία και μεταφέρονται στους μύες όπου οξειδώνονται ή στο ήπαρ όπου δρουν ως σηματοδοτικά μόρια και ως υποστρώματα για τη σύνθεση λιποπρωτεϊνών [145]. Η λιπόλυση αναστέλλεται από την ινσουλίνη, καθώς και από την αυξητική ορμόνη σε συνθήκες επάρκειας θρεπτικών συστατικών και ενέργειας [146]. Οι κατεχολαμίνες και η προσταγλανδίνη E₂, έχουν διφασική δράση. Συγκεκριμένα, οι κατεχολαμίνες μέσω των β-αδρενεργικών υποδοχέων προάγουν τη λιπόλυση, ενώ μέσω των α-αδρενεργικών υποδοχέων την αναστέλλουν. Η προσταγλανδίνη E₂ σε νανομοριακές συγκεντρώσεις αναστέλλει τη λιπόλυση, ενώ σε μικρομοριακές την προάγει [146]. Τη λιπόλυση επάγουν επίσης ο TNF-α, οι θυρεοειδικές ορμόνες, το νατριουρητικό πεπτίδιο, τα γλυκοκορτικοειδή και η αυξητική ορμόνη σε κατάσταση νηστείας [146].

2.1.8 Αδιποκίνες, φλεγμονή και αθηροσκλήρωση

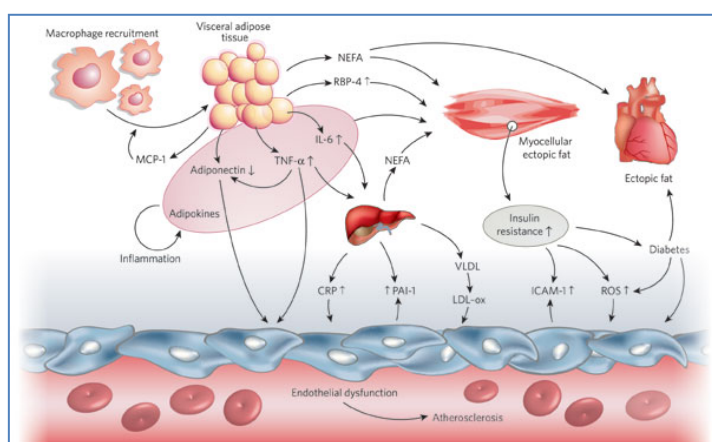
Όπως ήδη αναφέρθηκε, ο λιπώδης ιστός δεν αποτελεί απλά έναν αποταμιευτή ενέργειας, αλλά παράγει βιολογικά δραστικές ουσίες, οι οποίες συνολικά αναφέρονται ως αδιποκίνες ή λιποκυτταροκίνες. Οι αδιποκίνες διακρίνονται σε δύο τύπους: σε εκείνες που εκκρίνονται αποκλειστικά από το λιπώδη ιστό και σε εκείνες που εκκρίνονται σε μεγάλες ποσότητες, αλλά δεν είναι αποκλειστικά προϊόντα του λιπώδους ιστού (Πίνακας 3).

Σε ορισμένες μεταβολικές διαταραχές (π.χ. αντίσταση στην ινσουλίνη, ΣΔ, τα καρδιαγγειακά νοσήματα) παρατηρείται σημαντική διαταραχή στην παραγωγή και την έκκριση των αδιποκινών [147]. Ο αυξανόμενος λιπώδης ιστός, κυρίως ο σπλαχνικός, χαρακτηρίζεται από αύξηση του μεγέθους των λιποκυττάρων, τα οποία σταδιακά καθίστανται δυσλειτουργικά. Οι αδιποκίνες που εκκρίνονται από τα ίδια τα λιποκύτταρα, η υποξία που προκύπτει εξαιτίας της επέκτασης του λιπώδους ιστού και η ενεργοποίηση κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος επιτείνουν τη δυσλειτουργία των

λιποκυττάρων και του λιπώδους ιστού γενικότερα, οδηγώντας σε περαιτέρω προσέλκυση μονοκυττάρων, φλεγμονή και αντίσταση στην ινσουλίνη [148, 149]. Έτσι, η παχυσαρκία θεωρείται μια χρόνια φλεγμονώδης κατάσταση, η οποία με τους παραπάνω μηχανισμούς προάγει την αθηροσκλήρωση (Εικόνα 7).

Πίνακας 3. Αδιποκίνες που εκκρίνονται από το λευκό λιπώδη ιστό

Ειδικές αδιποκίνες του λευκού λιπώδους ιστού	Μη ειδικές αδιποκίνες του λευκού λιπώδους ιστού
Λεπτίνη	TNF- α
Αδιπονεκτίνη	Διαλυτός υποδοχέας του TNF- α
Βισφατίνη	IL-1
Ρεζιστίνη	IL-6
Βασπίνη	IL-10
Ομεντίνη	Ανταγωνιστής του υποδοχέα της IL-1 (IL-1RA)
Πρωτεΐνη δέσμησης ρετινόλης 4	Χημειοτακτική πρωτεΐνη-1(MCP-1)
Αδιψίνη	PAI-1
	Οιστρογόνα & ανδρογόνα
	Μεταλλοπρωτεϊνάσες



Εικόνα 7. Η σπλαχνική παχυσαρκία, η αντίσταση στην ινσουλίνη, η ηπατική φλεγμονή και η δυσλιπιδαιμία προάγουν την αθηροσκλήρωση. Ο λιπώδης ιστός, κυρίως μέσω της παραγωγής φλεγμονωδών κυτταροκινών, αδιποκινών και

χημειοτακτικών παραγόντων, επάγει την αντίσταση στην ινσουλίνη, τη φλεγμονή, το οξειδωτικό στρες και τελικά τη δυσλειτουργία του ενδοθηλίου.

2.1.9 Σπλαγγική παχυσαρκία και αντίσταση στην ινσουλίνη

Η σπλαγγική παχυσαρκία και η αντίσταση των περιφερικών ιστών στη δράση της ινσουλίνης είναι στενά συνυφασμένες [150]. Οι φλεγμονώδεις κυτταροκίνες που παράγουν τα σπλαγγικά λιποκύτταρα παρεμποδίζουν τη φυσιολογική δράση της ινσουλίνης στο λιπώδη και το μυϊκό ιστό [135]. Υπό αυτές τις συνθήκες αντίστασης στην ινσουλίνη, η πρόσληψη των κυκλοφορούντων λιπιδίων από το λιπώδη ιστό ελαττώνεται, ενώ παράλληλα αυξάνεται η λιπόλυση. Αυτές οι διαταραχές έχουν ως αποτέλεσμα την αυξημένη απελευθέρωση μη εστεροποιημένων λιπαρών οξέων στην κυκλοφορία και ακολούθως την έκτοπη εναπόθεση λίπους στο ήπαρ και τους σκελετικούς μύες [151, 152]. Η συσσώρευση λίπους στο ήπαρ, μια κατάσταση που είναι γνωστή ως μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος (non-alcoholic fatty liver disease; NAFLD), οδηγεί σε περαιτέρω απελευθέρωση ελεύθερων λιπαρών οξέων στην κυκλοφορία (εξαιτίας της αυξημένης λιπόλυσης), καθώς και σε αύξηση της ηπατικής παραγωγής γλυκόζης και της γλυκογονόλυσης [153]. Τα ελεύθερα λιπαρά οξέα αρχικά αναστέλλουν τη μεταφορά/φωσφορυλίωση της γλυκόζης και στη συνέχεια ελαττώνουν τόσο το ρυθμό σύνθεσης του γλυκογόνου όσο και την οξείδωση της γλυκόζης [153]. Το αποτέλεσμα όλων αυτών των φαινομένων είναι η επιδείνωση της αντίστασης στην ινσουλίνη και η αύξηση του κινδύνου εμφάνισης προδιαβήτη και ΣΔ2.

Η αντίσταση των περιφερικών ιστών στη δράση της ινσουλίνης αυξάνεται με την αύξηση του σωματικού βάρους [154]. Ωστόσο, αν και οι περισσότεροι παχύσαρκοι ασθενείς έχουν αυξημένα επίπεδα ινσουλίνης μεταγευματικά και σχετικά χαμηλή ευαισθησία των περιφερικών ιστών στη δράση της ινσουλίνης, υπάρχουν διαφορές μεταξύ ατόμων με παρόμοιο BMI [140, 154]. Έτσι, ορισμένα υπέρβαρα και παχύσαρκα άτομα εμφανίζουν φυσιολογική ευαισθησία των περιφερικών ιστών στη δράση της ινσουλίνης [155], ενώ ορισμένα άτομα με φυσιολογικό ή χαμηλό ΣΒ έχουν αντίσταση στην ινσουλίνη [140]. Ο TNF-α φαίνεται ότι καθορίζει την εμφάνιση της ινσουλινοαντίστασης σε παχύσαρκα άτομα [156, 157]. Πράγματι, ο TNF-α υπερεκφράζεται στο λιπώδη ιστό σε παχύσαρκα άτομα και σε πειραματικά μοντέλα με αντίσταση στην ινσουλίνη, ενώ παχύσαρκα ποντίκια που δεν εκφράζουν τον TNF-α ή τον υποδοχέα του δεν εμφανίζουν αντίσταση των περιφερικών ιστών στη δράση της ινσουλίνης [156, 157].

Όπως ήδη αναφέρθηκε, η σχέση της παχυσαρκίας με την αντίσταση στην ινσουλίνη/υπερινσουλιναίμια είναι αμφίδρομη. Συγκεκριμένα, η υπερινσουλιναίμια οδηγεί σε αύξηση του σωματικού βάρους. Οι υπεύθυνοι μηχανισμοί δεν έχουν αποσαφηνισθεί

πλήρως, φαίνεται όμως ότι σχετίζονται με τις φυσιολογικές δράσεις της ινσουλίνης. Η ινσουλίνη προάγει τη λιπογένεση και την αποθήκευση λίπους [158], αναστέλλει τη λιπόλυση και αυξάνει την όρεξη [159].

2.1.10 Σπλαγχνική παχυσαρκία και δυσλιπιδαιμία

Η δυσλιπιδαιμία της παχυσαρκίας μπορεί σε μεγάλο βαθμό να ερμηνευθεί από την επίδραση της αντίστασης στην ινσουλίνη στο μεταβολισμό των λιπιδίων [160, 161]. Φαίνεται ότι η αυξημένη ροή μη εστεροποιημένων λιπαρών οξέων στο ήπαρ σε καταστάσεις υπερινσουλιναιμίας οδηγεί σε αύξηση της ηπατικής σύνθεσης TG με αποτέλεσμα το σχηματισμό πλούσιων σε TG VLDL [162]. Συγκεκριμένα, τα πρόδρομα VLDL σωματίδια σχηματίζονται με την προσθήκη λιπιδίων (κυρίως TG και λιγότερο εστέρων χοληστερόλης και φωσφολιπιδίων) στην apoB στο ήπαρ με τη μεσολάβηση της πρωτεΐνης μεταφοράς τριγλυκεριδίων (microsomal triglyceride transfer protein; MTP). Με τη συνεχή προσθήκη λιπιδίων σχηματίζονται αρχικά πτωχά σε TG σωματίδια VLDL (VLDL₂). Τα VLDL₂ σωματίδια μπορούν είτε να εκκριθούν από τα ηπατικά κύτταρα ως έχουν είτε να δεχθούν επιπλέον TG και να μετατραπούν στα πλούσια σε TG VLDL₁ σωματίδια. Τα VLDL₁ σωματίδια είναι αυτά που κυρίως αυξάνονται σε καταστάσεις αντίστασης στην ινσουλίνη [163].

Τα χαμηλά επίπεδα της HDL-C οφείλονται στην αύξηση των επιπέδων των TG και είναι το αποτέλεσμα της ανταλλαγής TG των VLDL₁ σωματιδίων με εστέρες χοληστερόλης των HDL και LDL σωματιδίων (ετεροανταλλαγή λιπιδίων) διαμέσου της CETP [164]. Επιπλέον, η ινσουλινοαντίσταση πιθανά προκαλεί μείωση της ηπατικής παραγωγής της apoA1, της κύριας λιποπρωτεΐνης των HDL. Τέλος, η χαμηλού βαθμού φλεγμονή που παρατηρείται στην παχυσαρκία προάγει την παραγωγή λιπασών που διασπούν τα φωσφολιπίδια των HDL, με αποτέλεσμα την αύξηση του καταβολισμού τους [165].

Επιπρόσθετα, σε συνθήκες αντίστασης στην ινσουλίνη παρατηρείται μεταγευματική λιπαιμία, η οποία οφείλεται σε αύξηση της διαθεσιμότητας της apoB-48, σε αύξηση της λιπογένεσης καθώς και της σύνθεσης και απορρόφησης χοληστερόλης από τα εντεροκύτταρα [162].

Τα TG των LDL και HDL σωματιδίων που προκύπτουν από την ετεροανταλλαγή των λιπιδίων υδρολύονται από την ηπατική λιπάση, οδηγώντας στο σχηματισμό sdLDL και μικρών πυκνών HDL (small dense HDL; sdHDL) σωματιδίων [166]. Πράγματι, η σπλαγχνική παχυσαρκία έχει συσχετισθεί με αυξημένα επίπεδα sdLDL σωματιδίων [167,

168], ένα εύρημα που σε μεγάλο βαθμό οφείλεται στην αντίσταση στην ινσουλίνη. Στη μελέτη Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS) το μέγεθος των LDL σωματιδίων συσχετίστηκε αρνητικά με τα επίπεδα της ινσουλίνης ($r = -0.18, p < 0.001$) και θετικά με την ευαισθησία στην ινσουλίνη ($r = 0.21, p < 0.001$) [169]. Σε μια μεταγενέστερη ανάλυση των αποτελεσμάτων της ίδιας μελέτης η ευαισθησία των περιφερικών ιστών στη δράση της ινσουλίνης εμφάνιζε θετική συσχέτιση με το μέγεθος των LDL σωματιδίων ($r = 0.34, p < 0.01$) και αρνητική συσχέτιση με τη συγκέντρωση των LDL σωματιδίων ($r = -0.28, p < 0.001$) και την παρουσία sdLDL σωματιδίων ($r = -0.34, p < 0.001$) [170]. Μια αναδρομική μελέτη στους μη διαβητικούς ασθενείς της μελέτης IRAS που εμφάνισαν ΣΔ2 σε μια διάρκεια παρακολούθησης 5.2 ετών έδειξε ότι ο αριθμός και το μέγεθος των LDL σωματιδίων συσχετίζονταν με την εμφάνιση ΣΔ2 [171]. Μάλιστα, όσο αυξάνεται η αντίσταση των περιφερικών ιστών στη δράση της ινσουλίνης τόσο αυξάνεται ο αριθμός και μειώνεται το μέγεθος των LDL σωματιδίων [172].

Στο σχηματισμό sdLDL σωματιδίων συμβάλλουν επίσης τα αυξημένα επίπεδα TG που συχνά εμφανίζουν οι παχύσαρκοι ασθενείς, καθώς και η αυξημένη δραστηριότητα της ηπατικής λιπάσης [173].

Τέλος, σε μια μελέτη τα επίπεδα της αδιπνεκτίνης, τα οποία είναι χαμηλά στους παχύσαρκους ασθενείς, εμφάνισαν θετική συσχέτιση με το μέγεθος των LDL σωματιδίων ($r = 0.55, p < 0.001$) [174]. Επιπλέον, τα επίπεδα της αδιπνεκτίνης και το ολικό λίπος του σώματος μπορούσαν να εξηγήσουν το 30% της μεταβλητότητας του μεγέθους των LDL σωματιδίων [174]. (περισσότερα για την αδιπνεκτίνη αναφέρονται σε επόμενο κεφάλαιο της παρούσας διδακτορικής διατριβής)

2.1.11 Θεραπευτικές παρεμβάσεις στην παχυσαρκία

Το Εθνικό Ινστιτούτο για το Διαβήτη και τις Γαστρεντερικές και Νεφρικές νόσους (National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; NIDDK) δημοσίευσε το 1998 οδηγίες για την αντιμετώπιση της παχυσαρκίας [175]. Οι οδηγίες αυτές τονίζουν τη σημασία των υγιεινοδιαιτητικών μέτρων (ελάττωση της πρόσληψης θερμίδων και αύξηση της σωματικής δραστηριότητας) για την απώλεια βάρους. Πιο αποτελεσματικές έχουν αποδειχθεί οι δίαιτες που περιλαμβάνουν μία μείωση της ημερήσιας πρόσληψης θερμίδων κατά 500-1000 kcal. Ρεαλιστικό στόχο αποτελεί η ελάττωση του σωματικού βάρους κατά 7-10% σε 6-12 μήνες. Ιδιαίτερη σημασία έχει η διατήρηση της απώλειας του σωματικού βάρους με τη συνέχιση τόσο μιας ισορροπημένης διατροφής όσο και της σωματικής

άσκησης. Η απώλεια βάρους οδηγεί σε βελτίωση του λιπιδαιμικού προφίλ (ελάττωση της TC και των TG και αύξηση της HDL-C), καθώς και σε ελάττωση της αρτηριακής πίεσης (ΑΠ), των επιπέδων γλυκόζης και της αντίστασης στην ινσουλίνη [140]. Τέλος, η απώλεια βάρους πιθανά περιορίζει τη φλεγμονή που παρατηρείται στην παχυσαρκία, δεδομένου ότι ελαττώνει τις συγκεντρώσεις της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (C-reactive protein; CRP), του PAI-1 και της IL-6 [176].

Οι ασθενείς με BMI ≥ 27 kg/m² που εμφανίζουν μία ή περισσότερες παθολογικές καταστάσεις που σχετίζονται με την παχυσαρκία (π.χ. δυσλιπιδαιμία, ΑΥ), καθώς και τα άτομα με BMI >30 kg/m² είναι υποψήφιοι για φαρμακευτική θεραπεία σε συνδυασμό με την υγιεινοδιαιτητική παρέμβαση [140]. Επιπρόσθετα, σε άτομα με BMI ≥ 35 kg/m² είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν βαριατρικές επεμβάσεις.

Εδώ και αρκετά χρόνια γίνεται σημαντική έρευνα για την παχυσαρκία και έχουν μελετηθεί αρκετά φάρμακα. Αρχικά, τα μοναδικά διαθέσιμα φάρμακα ήταν η ορλιστάτη, ένας αναστολέας των εντερικών λιπασών που μειώνει την απορρόφηση του λίπους από το γαστρεντερικό σωλήνα [177], και η σιμπουτραμίνη, ένας εκλεκτικός αναστολέας της επαναπρόσληψης νοραδρεναλίνης και σεροτονίνης από τα κέντρα της όρεξης στον εγκέφαλο [178]. Η σιμπουτραμίνη αποσύρθηκε από την κυκλοφορία το 2010 μετά τη δημοσίευση της μελέτης SCOUT, στην οποία η χορήγηση του φαρμάκου σε παχύσαρκους ασθενείς με παράγοντες κινδύνου για καρδιαγγειακή νόσο συνοδεύθηκε από αύξηση των καρδιαγγειακών συμβαμάτων [179]. Η ορλιστάτη εξακολουθεί να αποτελεί εγκεκριμένη θεραπευτική επιλογή για την αντιμετώπιση της παχυσαρκίας, εφόσον υπάρχει ένδειξη φαρμακολογικής αντιμετώπισης της νόσου [180]. Το επόμενο φάρμακο κατά της παχυσαρκίας που κυκλοφόρησε ήταν το rimonabant, ένας αναστολέας του ενδοκανναβινοειδούς συστήματος, το οποίο αναλύεται διεξοδικά στο επόμενο κεφάλαιο. Στην παρούσα φάση τα εγκεκριμένα φάρμακα για την αντιμετώπιση της παχυσαρκίας, εκτός από την ορλιστάτη, είναι η φαιντερίνη (συμπαθητικομιμητική αμίνη), μόνη ή σε συνδυασμό με τοπιραμάτη (αντιεπιληπτικό φάρμακο), η διεθυλπροπιόνη (συμπαθητικομιμητική αμίνη), η λорκασερίνη (εκλεκτικός αγωνιστής του υποδοχέα 2C της σεροτονίνης) και ο συνδυασμός ναλτρεξόνης (ειδικός ανταγωνιστής των οπιοειδών)/βουπροπιόνης (εκλεκτικός αναστολέας της νευρωνικής επαναπρόσληψης νοραδρεναλίνης και ντοπαμίνης), ενώ πρόσφατα στις ενδείξεις της λιραγλουτίδης [(ενός αγωνιστή των υποδοχέων του πεπτιδίου που ομοιάζει με γλουκαγόνο (glucagon-like peptide-1; GLP-1)] προστέθηκε και η παχυσαρκία [180].

Ωστόσο, πολλά από τα παραπάνω φάρμακα έχουν αρκετούς περιορισμούς, καθώς δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε ορισμένες κατηγορίες ασθενών. Συγκεκριμένα, η φαιντερμίνη και η διεθυλπροπιόνη αντενδείκνυνται σε ασθενείς με αρρυθμιστή ΑΥ, ιστορικό καρδιακής νόσου, αρρυθμιών ή σπασμών, καθώς αυξάνουν την ΑΠ και μπορούν να προκαλέσουν ταχυκαρδία, αρρυθμίες και ευερεθιστότητα. Επιπλέον, η φαιντερμίνη μπορεί να χρησιμοποιηθεί για περιορισμένο χρονικό διάστημα. [180]. Η λορκασερίνη ενέχει τον κίνδυνο εμφάνισης σεροτονινεργικού συνδρόμου σε άτομα με κατάθλιψη που λαμβάνουν αναστολείς επαναπρόσληψης σεροτονίνης/νοραδρεναλίνης (SNRIs) ή εκλεκτικούς αναστολείς επαναπρόσληψης σεροτονίνης (SSRIs) [180]. Επομένως, απαιτείται ορθολογική και ιδιαίτερα προσεκτική χορήγηση των συγκεκριμένων φαρμάκων.

2.2 ΤΟ ΕΝΔΟΓΕΝΕΣ ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΩΝ ΚΑΝΝΑΒΙΝΟΕΙΔΩΝ

Το σύστημα αυτό απαρτίζεται από τους υποδοχείς των κανναβινοειδών, οι οποίοι ανήκουν στην κατηγορία των μεμβρανικών υποδοχέων που συνδέονται με G-πρωτεΐνες (G-protein-coupled cannabinoid receptors) [181-183] και τους προσδέτες τους (ligands). Οι τελευταίοι είναι τοπικά παραγόμενοι αγωνιστές προερχόμενοι από φωσφολιπίδια [αραχιδονυλαιθανολαμίδη (ανανδαμίδη), 2-αραχιδονυλ-γλυκερόλη (2-AG)] [184, 185] και ονομάζονται ενδοκανναβινοειδή (endocannabinoids).

Τα ενδοκανναβινοειδή δεν αποθηκεύονται στα συναπτικά κυστίδια [186], αλλά ενσωματώνονται στην κυτταρική μεμβράνη ως φωσφολιπίδια και απελευθερώνονται από τους νευρώνες μετά από εκπόλωση της κυτταρικής τους μεμβράνης [186].

Έχουν ταυτοποιηθεί δύο είδη υποδοχέων των κανναβινοειδών, οι CB1 και οι CB2 υποδοχείς. Οι πρώτοι εντοπίζονται κυρίως στο κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ), καθώς και σε περιφερικούς ιστούς και συγκεκριμένα στο ήπαρ, τους σκελετικούς μύες, το λιπώδη ιστό, το γαστρεντερικό σωλήνα και το αυτόνομο νευρικό σύστημα [187, 188]. Οι CB2 υποδοχείς βρίσκονται στο ανοσολογικό σύστημα [186].

Οι αρχικές πληροφορίες αναφορικά με το ρόλο του ενδογενούς συστήματος κανναβινοειδών και των ανταγωνιστών του προέρχονται κυρίως από πειράματα σε ποντίκια. Το πρώτο ενδογενές κανναβινοειδές που ανακαλύφθηκε, η ανανδαμίδη, βρέθηκε ότι προάγει την πρόσληψη τροφής σε κορεσμένα από τροφή (satiated) ποντίκια [189, 190]. Τα ευρήματα αυτά αποτέλεσαν το έναυσμα για τη διερεύνηση του συστήματος των

κανναβινοειδών ως μέσου αντιμετώπισης της παχυσαρκίας και των μεταβολικών της διαταραχών.

Σε φυσιολογικές συνθήκες το ενδογενές σύστημα των κανναβινοειδών βρίσκεται σε ηρεμία (silent) και ενεργοποιείται όταν ο οργανισμός βρίσκεται σε κατάσταση stress, προκειμένου να το αντιμετωπίσει. Ορισμένες από τις δράσεις του συστήματος είναι η ελάττωση του άλγους και του άγχους, καθώς και η ρύθμιση της θερμοκρασίας του σώματος, της ΑΠ, του αγγειακού τόνου και της παραγωγής ορμονών [191]. Επιπλέον, το σύστημα αυτό οδηγεί σε αυξημένη πρόσληψη τροφής διαμέσου διέγερσης της όρεξης και του συστήματος επιβράβευσης του εγκεφάλου [191, 192].

Όταν το ενδογενές σύστημα κανναβινοειδών είναι υπερενεργοποιημένο προάγει τη δυσλιπιδαιμία, την αντίσταση στην ινσουλίνη, τη θρόμβωση και τη φλεγμονή [193]. Συγκεκριμένα, η διέγερση των CB1 υποδοχέων στο λιπώδη ιστό προάγει τη λιπογένεση, μέσω αύξησης της δράσης της LPL [194], ενώ παράλληλα μειώνει την πρόσληψη της γλυκόζης από τους μύες και την οξειδωσή της, αναστέλλοντας το μεταφορέα γλυκόζης 4 (GLUT 4) και τα ένζυμα της β-οξειδωσης, αντίστοιχα [194]. Επιπρόσθετα, τα ενδογενή κανναβινοειδή ελαττώνουν τη σύνθεση της αδιπονεκτίνης στο λιπώδη ιστό [194-196], αναιρώντας έτσι τα ευεργετικά της αποτελέσματα στο καρδιαγγειακό σύστημα και το μεταβολισμό [197] (οι ιδιότητες την αδιπονεκτίνης και η συσχέτισή της με την καρδιαγγειακή νόσο περιγράφονται σε επόμενο κεφάλαιο της παρούσας διδακτορικής διατριβής). Η συσσώρευση σπλαγχνικού λίπους έχει επίσης συσχετισθεί με την υπέρμετρη ενεργοποίηση του περιφερικού συστήματος κανναβινοειδών [198]. Επιπλέον, παχύσαρκα άτομα και ασθενείς με ΣΔ2 εμφανίζουν υψηλότερες συγκεντρώσεις ενδοκανναβινοειδών στο λιπώδη ιστό και τον ορό του αίματος, αντίστοιχα σε σύγκριση με υγιή μη παχύσαρκα άτομα [199]. Λαμβάνοντας υπόψη τις ενδείξεις που συνηγορούν υπέρ της υπέρμετρης ενεργοποίησης του συστήματος των ενδογενών κανναβινοειδών στην παχυσαρκία και τα ενθαρρυντικά αποτελέσματα των πειραματικών μελετών, ο αποκλεισμός του ενδογενούς συστήματος κανναβινοειδών αποτέλεσε θεραπευτικό στόχο της σπλαχνικής παχυσαρκίας και των συνοδών της μεταβολικών διαταραχών. Το 1994 παρασκευάστηκε ο πρώτος εκλεκτικός ανταγωνιστής των CB1 υποδοχέων, ο SR141716 (rimonabant). Στο επόμενο κεφάλαιο αναλύονται διεξοδικά οι ιδιότητες και παρουσιάζονται οι κλινικές μελέτες του rimonabant.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

ΦΑΡΜΑΚΑ

3.1 RIMONABANT

3.1.1. Γενικά

Το rimonabant μειώνει την πρόσληψη τροφής τόσο σε παχύσαρκα όσο και σε λιπόσαρκα ποντίκια, οδηγώντας έτσι σε απώλεια βάρους [193, 200-203]. Μάλιστα, αντίθετα με την αρχική πεποίθηση ότι επηρεάζεται η κατανάλωση μόνο των γλυκών και μαλακών τροφών, φάνηκε ότι ο ανταγωνισμός των CB1 υποδοχέων μειώνει την πρόσληψη κάθε είδους τροφής [204]. Παρόλο που αναπτύσσεται γρήγορα ανοχή στη ανορεξιογόνο δράση του φαρμάκου, η απώλεια βάρους διατηρείται και συνεχίζεται [193, 201, 203]. Η παρατήρηση αυτή οδήγησε στη διερεύνηση περιφερικών μηχανισμών δράσης του rimonabant, επιπρόσθετων του κεντρικού ανορεξιογόνου αποτελέσματός του. Συγκεκριμένα, βρέθηκε ότι το rimonabant προάγει τη θερμογένεση [202, 205], την πρόσληψη της γλυκόζης από τους σκελετικούς μύες [202, 205], τη σύνθεση της αδιπονεκτίνης στο λιπώδη ιστό [206], καθώς και τη λιπόλυση, επηρεάζοντας την έκφραση ποικίλων γονιδίων που εμπλέκονται σε διάφορα στάδια του καταβολισμού των λιπαρών οξέων [202]. Επιπλέον, βελτιώνει το λιπιδαιμικό προφίλ [207] και την αντίσταση στην ινσουλίνη [199], ανεξάρτητα από την απώλεια βάρους που επιτυγχάνει.

3.1.2 Φαρμακοκινητική

Η φαρμακοκινητική του rimonabant είναι σχεδόν αποκλειστικά δοσοεξαρτώμενη μέχρι τη δόση των 20 mg, ενώ πέρα από τα 20 mg οι αυξήσεις της περιοχής κάτω από την καμπύλη (area under the curve; AUC) δεν επηρεάζονται ιδιαίτερα από τη δόση [208]. Σε κατάσταση νηστείας η χορήγηση πολλαπλών καθημερινών δόσεων των 20 mg σε υγιή άτομα επιτυγχάνει τη μέγιστη συγκέντρωση του φαρμάκου στο πλάσμα σε περίπου δύο ώρες, ενώ σταθερά επίπεδα στο πλάσμα επιτυγχάνονται σε 13 ημέρες [208]. Ο όγκος κατανομής του rimonabant συσχετίζεται με το ΣΒ. Έτσι, τα παχύσαρκα άτομα έχουν μεγαλύτερο όγκο κατανομής και απαιτείται περισσότερος χρόνος για να επιτευχθούν σταθερά επίπεδα στο πλάσμα. Επιπλέον, στα άτομα αυτά ο χρόνος εξάλειψης του φαρμάκου (elimination half-life) είναι μεγαλύτερος σε σύγκριση με τα άτομα φυσιολογικού βάρους (16 και 9 ημέρες, αντίστοιχα) [208]. *In vitro*, το rimonabant είναι ισχυρότατα συνδεδεμένο με τις πρωτεΐνες του πλάσματος (>99.9%) [208].

Το rimonabant μεταβολίζεται στο ήπαρ διαμέσου του κυτοχρώματος CYP3A και της οδού της αμιδοϋδρολάσης [209]. Οι μεταβολίτες που προκύπτουν είναι ανενεργοί και δεν συμβάλλουν στο φαρμακολογικό αποτέλεσμα. Περίπου το 3% της δόσης του φαρμάκου απεκκρίνεται στα ούρα, ενώ το 86% απομακρύνεται με τα κόπρανα τόσο με τη μορφή μεταβολιτών όσο και με τη μορφή του αρχικού φαρμάκου.

Η ήπια ηπατική και νεφρική δυσλειτουργία δεν φαίνεται να επηρεάζουν τη φαρμακοκινητική του rimonabant, ενώ δεν είναι γνωστή η επίδραση της σοβαρής δυσλειτουργίας των παραπάνω οργάνων [208].

3.1.3 Οι κλινικές μελέτες του rimonabant

Οι πρώτες κλινικές μελέτες του rimonabant σε ανθρώπους συμπεριελήφθησαν σε ένα μεγάλο πρόγραμμα κλινικών δοκιμών, το Rimonabant In Obesity (RIO). Τόσο αυτές οι μελέτες, όσο και οι μεταγενέστερες θα παρουσιαστούν διεξοδικά αμέσως παρακάτω.

3.1.3.1 RIO-Europe

Η RIO-Europe ήταν μια διπλά τυφλή τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο κλινική μελέτη σε 1507 υπέρβαρους ή παχύσαρκους ασθενείς με συνοδό δυσλιπιδαιμία ή/και ΑΥ (ανεξάρτητα από τη λήψη φαρμακευτικής αγωγής) [210]. Όλοι οι συμμετέχοντες ακολούθησαν μια ήπια υποθερμιδική διαίτα (έλλειμμα 600 kcal/μέρα) και τυχαιοποιήθηκαν σε εικονικό φάρμακο ή σε μία δόση rimonabant, 5 mg ή 20 mg την ημέρα. Η διάρκεια παρακολούθησης ήταν ένα έτος.

Η απώλεια βάρους στο τέλος του πρώτου έτους ήταν μεγαλύτερη στις δύο ομάδες που έλαβαν το φάρμακο (-3.4 ± 5.7 kg; $p = 0.002$ έναντι του εικονικού φαρμάκου και -6.6 ± 7.2 kg; $p < 0.001$ έναντι του εικονικού φαρμάκου για τα 5 mg και 20 mg rimonabant, αντίστοιχα). Περισσότεροι ασθενείς που έλαβαν 20 mg του φαρμάκου πέτυχαν απώλεια βάρους $\geq 5\%$ και $\geq 10\%$ του αρχικού τους σωματικού βάρους σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο ($p < 0.001$). Η περίμετρος μέσης παρουσίασε στατιστικά σημαντική ελάττωση και στις δυο ομάδες που έλαβαν rimonabant (-5.7% ; $p = 0.002$ έναντι του εικονικού φαρμάκου και -7.2% ; $p < 0.001$ έναντι του εικονικού φαρμάκου για τις ομάδες που έλαβαν 5 mg και 20 mg, αντίστοιχα) [210].

Η HDL-C αυξήθηκε κατά 16.2% με τα 5 mg ($p = 0.048$) και κατά 22.3% ($p < 0.001$) με τα 20 mg του φαρμάκου. Τα TG μειώθηκαν κατά 6.8% στην ομάδα στην οποία χορηγήθηκαν 20 mg rimonabant, ενώ αυξήθηκαν κατά 5.7% και 8.3% στην ομάδα των 5 mg και του

εικονικού φαρμάκου, αντίστοιχα ($p < 0.001$ για όλες τις μεταβολές). Όσον αφορά στα επίπεδα της TC και της LDL-C, καθώς και της συστολικής και διαστολικής ΑΠ, δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική ελάττωσή τους σε καμία από τις δύο ομάδες που έλαβε το ενεργό φάρμακο [210].

Η γλυκόζη και η ινσουλίνη νηστείας στο πλάσμα εμφάνισαν στατιστικά σημαντική μείωση μόνο στην ομάδα που έλαβε 20 mg rimonabant. Παράλληλα, στην ομάδα αυτή παρατηρήθηκε ελάττωση και της αντίστασης στη δράση της ινσουλίνης, όπως αυτή εκτιμήθηκε με το δείκτη homeostasis model assessment index-insulin resistance (HOMA-IR) [210]. Η μελέτη αυτή ήταν η πρώτη που έδειξε ευνοϊκά αποτελέσματα στην απώλεια βάρους και σε ορισμένους καρδιαγγειακούς παράγοντες κινδύνου με τον αποκλεισμό των κανναβινοειδών υποδοχέων.

3.1.3.2 RIO- Lipids

Η RIO- Lipids ήταν μια διπλά τυφλή τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο κλινική μελέτη σε 1036 υπέρβαρους ή παχύσαρκους ασθενείς με συνοδό δυσλιπιδαιμία [211]. Η δυσλιπιδαιμία ορίστηκε είτε με τιμές TG = 150-700 mg/dL ή με αθηρωματικό δείκτη (λόγος TC/HDL-C) > 4.5 στις γυναίκες και > 5 στους άντρες. Όλοι οι συμμετέχοντες ακολούθησαν μια ήπια υποθερμιδική διαίτα (έλλειμμα 600 kcal/μέρα) και τυχαιοποιήθηκαν σε εικονικό φάρμακο ή σε μία δόση rimonabant, 5 mg ή 20 mg την ημέρα, για ένα έτος.

Το rimonabant σε δόση 20 mg συσχετίστηκε με απώλεια βάρους (-6.7 ± 0.5 kg), ελάττωση της περιμέτρου μέσης (-5.8 ± 0.5 cm) και των TG ($-13.0 \pm 3.5\%$) και αύξηση της HDL-C ($+10.0 \pm 1.6\%$) ($p < 0.001$ σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο για όλες τις μεταβολές) [211]. Παρόλο που δεν υπήρξε μεταβολή στα επίπεδα της LDL-C, η κατανομή των LDL υποκλασμάτων μετατοπίστηκε προς τα υποκλάσματα με μεγαλύτερο μέγεθος [1.1 \AA διαφορά στο μέγιστο (peak) μέγεθος των LDL σωματιδίων ($p = 0.008$) και κατά 4.6% μείωση του ποσοστού των sdLDL σωματιδίων ($p = 0.007$)] [211].

Η ινσουλίνη νηστείας, τα επίπεδα γλυκόζης και ινσουλίνης στη μία και τις δύο ώρες και η AUC μετά τη φόρτιση με 75 mg γλυκόζης (δοκιμασία ανοχής γλυκόζης) μειώθηκαν σημαντικά στην ομάδα που πήρε 20 mg rimonabant ($p < 0.01$) [211].

Στατιστικά σημαντική ($p < 0.001$) ήταν και η ελάττωση του επιπολασμού του μεταβολικού συνδρόμου στην ίδια ομάδα, ένα γεγονός που αποδόθηκε κυρίως στο ευνοϊκό αποτέλεσμα της φαρμακευτικής αγωγής στην περίμετρο μέσης και τα επίπεδα της HDL-C [211].

Επιπρόσθετα, στους ασθενείς στους οποίους παρατηρήθηκε αύξηση της αδιπονεκτίνης, αυτή αποδόθηκε μόνο κατά 43% στην απώλεια βάρους, ενώ αυτή η αύξηση συσχετιζόταν με την αύξηση των επιπέδων της HDL-C. Ακόμα, παρατηρήθηκε δόσοεξαρτώμενη μείωση των επιπέδων της λεπτίνης και στις δυο ομάδες που έλαβαν το ενεργό φάρμακο ($p = 0.002$ και $p < 0.001$ για τους ασθενείς που έλαβαν 5 mg και 20 mg rimonabant, αντίστοιχα, σε σύγκριση με τα αρχικά επίπεδα) [211].

Η CRP ελαττώθηκε κατά 0.9 mg/dL στην ομάδα των 20 mg rimonabant ($p = 0.02$ σε σύγκριση με τα αρχικά επίπεδα). Τέλος, παρατηρήθηκε μια στατιστικά σημαντική ελάττωση της συστολικής και της διαστολικής ΑΠ, η οποία ήταν περισσότερο εμφανής στους υπερτασικούς ασθενείς. Η παρούσα μελέτη, λοιπόν, επιβεβαιώνει τα αποτελέσματα της RIO- Europe και τα επεκτείνει και σε ασθενείς με αθηρογόνο δυσλιπιδαιμία.

3.1.3.3 RIO- North America

Η μελέτη αυτή ήταν μια διπλά τυφλή τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο κλινική μελέτη σε 3045 υπέρβαρα ή παχύσαρκα άτομα με συνοδό δυσλιπιδαιμία ή/και ΑΥ (ανεξάρτητα από τη λήψη φαρμακευτικής αγωγής) [212]. Όλοι οι συμμετέχοντες ακολούθησαν μια ήπια υποθερμιδική διαίτα (έλλειμμα 600 kcal/μέρα) και τυχαιοποιήθηκαν σε εικονικό φάρμακο ή σε μία δόση rimonabant, 5mg ή 20mg την ημέρα, για ένα έτος. Μετά από αυτό το έτος οι ασθενείς στους οποίους είχε χορηγηθεί ενεργό φάρμακο επανατυχαιοποιήθηκαν σε εικονικό φάρμακο ή στην ίδια δόση του ενεργού φαρμάκου, ενώ η ομάδα του εικονικού φαρμάκου συνέχισε ως είχε, για ακόμα ένα έτος, δηλαδή για δύο συνολικά έτη.

Συγκριτικά με το εικονικό φάρμακο, το rimonabant σε δόση 20 mg συσχετίστηκε με μια στατιστικά σημαντική απώλεια βάρους (-6.3 ± 0.2 kg έναντι -1.6 ± 0.2 kg; $p < 0.001$) και ελάττωση της περιμέτρου μέσης (-6.1 ± 0.2 cm έναντι -2.5 ± 0.3 cm; $p < 0.001$). Το ποσοστό των ασθενών που πέτυχαν απώλεια βάρους $\geq 5\%$ τον πρώτο χρόνο ήταν 26.1% στην ομάδα των 5 mg rimonabant (OR 1.4; 95% CI 1.1-1.8; $p < 0.004$), 48.6% στην ομάδα των 20 mg rimonabant (OR 4.1; 95% CI 3.2-5.2; $p < 0.001$) και 20% στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου. Το ποσοστό των ασθενών που πέτυχαν απώλεια βάρους $\geq 10\%$ τον πρώτο χρόνο ήταν 25.2% στην ομάδα των 20 mg rimonabant και 8.5% στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου [λόγος συμπληρωματικών πιθανοτήτων (odds ratio; OR) 4.0; 95% CI 2.9-5.5; $p < 0.001$]. Μόνο το 10.6% των ασθενών στην ομάδα που έλαβε 5 mg rimonabant πέτυχε απώλεια βάρους $\geq 10\%$ (OR 1.3; 95% CI 0.9-1.8). Οι ασθενείς που έλαβαν 20 mg

rimonabant και τα δυο χρόνια πέτυχαν απώλεια βάρους 7.4 kg, σε αντίθεση με αυτούς που έλαβαν αρχικά 20 mg rimonabant και στη συνέχεια εικονικό φάρμακο, οι οποίοι επανάκτησαν το μεγαλύτερο ποσοστό από το βάρος που είχαν χάσει αρχικά. Παρόμοια ήταν τα αποτελέσματα όσον αφορά και την περιμετρο μέσης. Η απώλεια βάρους, η μείωση της περιμέτρου μέσης, όπως επίσης και το ποσοστό των ασθενών που πέτυχαν απώλεια βάρους $\geq 5\%$ και $\geq 10\%$ και στα δυο έτη συνολικά ήταν σημαντικά υψηλότερα στην ομάδα που έλαβε 20 mg rimonabant για δυο χρόνια, συγκριτικά με αυτούς που έλαβαν εικονικό φάρμακο για το ίδιο διάστημα [212].

Το πρώτο έτος παρατηρήθηκε μεγαλύτερη αύξηση της HDL-C στην ομάδα των 20 mg rimonabant έναντι της ομάδας του εικονικού φαρμάκου ($12.6 \pm 0.5\%$ έναντι $5.4 \pm 0.7\%$; $p < 0.001$), ενώ τα επίπεδα των TG ελαττώθηκαν με το rimonabant και αυξήθηκαν με το εικονικό φάρμακο ($-5.3\% \pm 1.2$ έναντι $7.9 \pm 2\%$; $p < 0.001$). Τα άτομα που επανατυχαιοποιήθηκαν σε εικονικό φάρμακο είχαν υψηλότερα επίπεδα TG και χαμηλότερα επίπεδα HDL-C το δεύτερο έτος, σε αντίθεση με όσους συνέχισαν να παίρνουν το ενεργό φάρμακο σε οποιαδήποτε δόση [212]. Ο αθηρωματικός δείκτης ελαττώθηκε και στις δυο ομάδες που έλαβαν το ενεργό φάρμακο το πρώτο έτος ($p < 0.001$ σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο), σε αντίθεση με τα επίπεδα της TC και της LDL-C, τα οποία δεν εμφάνισαν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των τριών ομάδων.

Ο επιπολασμός του μεταβολικού συνδρόμου μειώθηκε σημαντικά στην ομάδα των 20 mg rimonabant (από 34.8% σε 21.2%) συγκριτικά με την ομάδα του εικονικού φαρμάκου. Η μείωση αυτή, μάλιστα, παρέμεινε στατιστικά σημαντική μέχρι το τέλος του δεύτερου έτους. Η ινσουλίνη νηστείας ελαττώθηκε και στις δυο υπό αγωγή ομάδες, ενώ η μείωση που παρατηρήθηκε στη συστολική και τη διαστολική ΑΠ δεν ήταν στατιστικά σημαντική [212]. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η παρατήρηση ότι οι μεταβολές της HDL-C, των TG, της ινσουλίνης νηστείας και της αντίστασης στην ινσουλίνη κατά τη διάρκεια του πρώτου έτους ήταν σχεδόν διπλάσιες από τις αναμενόμενες από την απώλεια βάρους.

Η μελέτη RIO-North America ήταν η μοναδική μελέτη του προγράμματος RIO που σχεδιάστηκε για να διερευνήσει τα μακροπρόθεσμα αποτελέσματα του αποκλεισμού του συστήματος των ενδογενών κανναβινοειδών στην απώλεια βάρους και τους καρδιομεταβολικούς παράγοντες κινδύνου και κατέδειξε μια ήπια, αλλά παρατεταμένη απώλεια βάρους, καθώς και ευνοϊκές μεταβολές των παραγόντων κινδύνου στα δύο έτη.

3.1.3.4 RIO- Diabetes

Η μελέτη αυτή ήταν μια διπλά τυφλή τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο κλινική μελέτη σε 1047 υπέρβαρους ή παχύσαρκους ασθενείς με ΣΔ2, οι οποίοι λάμβαναν μονοθεραπεία με μετφορμίνη ή σουλφονουλουρία για τουλάχιστον 6 μήνες και είχαν επίπεδα γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης (HbA1c) 6.5-10% [213]. Οι ασθενείς τυχαιοποιήθηκαν σε εικονικό φάρμακο ή rimonabant 5 mg ή 20 mg την ημέρα για ένα χρόνο, ενώ παράλληλα ακολούθησαν μια ήπια υποθερμιδική διαίτα και συνεστήθη αύξηση της σωματικής τους δραστηριότητας.

Συγκριτικά με το εικονικό φάρμακο, το rimonabant πέτυχε σημαντικότερη απώλεια βάρους και στις δυο δόσεις που χορηγήθηκε (-2.3 ± 4.2 kg; $p = 0.01$ έναντι του εικονικού φαρμάκου με τα 5 mg rimonabant και -5.3 ± 5.2 kg; $p < 0.0001$ έναντι του εικονικού φαρμάκου με τα 20 mg rimonabant). Παρόμοια ήταν τα ευρήματα που αφορούσαν στην επίτευξη μείωσης $\geq 5\%$ και $\geq 10\%$ του αρχικού σωματικού βάρους ($\geq 5\%$ απώλεια: $p = 0.02$ για τα 5 mg και $p < 0.0001$ για τα 20 mg; $\geq 10\%$ απώλεια: $p = 0.01$ για τα 5 mg και $p < 0.0001$ για τα 20 mg) και στην ελάττωση της περιμέτρου μέσης (-2.9 ± 5.6 cm; $p = 0.02$ για τα 5 mg και -5.2 ± 6.1 cm; $p < 0.0001$ για τα 20 mg) [213].

Τα επίπεδα της HbA1c στο τέλος της μελέτης ήταν χαμηλότερα και στις δυο ομάδες του ενεργού φαρμάκου σε σύγκριση με τα αντίστοιχα της ομάδας που έλαβε το εικονικό φάρμακο ($-0.1 \pm 1.0\%$; $p = 0.03$ και $-0.6 \pm 0.8\%$; $p < 0.0001$ για τα 5 mg και τα 20 mg, αντίστοιχα). Επιπλέον, περισσότεροι ασθενείς στους οποίους χορηγήθηκε rimonabant σε δόση 20 mg πέτυχαν επίπεδα HbA1c $< 6.5\%$ και $< 7\%$, συγκριτικά με την ομάδα του εικονικού φαρμάκου ($p < 0.0001$), ένα γεγονός που αποδόθηκε μόνο κατά το ήμισυ στην απώλεια βάρους. Στην ίδια ομάδα παρατηρήθηκε επίσης και μεγαλύτερος αριθμός ασθενών που χρειάστηκε να ελαττώσει την αντιδιαβητική του αγωγή. Η γλυκόζη νηστείας και ο δείκτης HOMA-IR παρουσίασαν στατιστικά σημαντική μείωση μόνο στην ομάδα που έλαβε 20 mg rimonabant σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο (-0.64 ± 1.96 ; $p < 0.0001$ και -0.5 ± 5.7 ; $p = 0.03$ αντίστοιχα) [213].

Τα επίπεδα της HDL-C αυξήθηκαν κατά 15.4% στους ασθενείς στους οποίους χορηγήθηκαν 20 mg rimonabant έναντι 7.1% στην ομάδα που έλαβε εικονικό φάρμακο ($p < 0.0001$), ενώ τα επίπεδα των TG μειώθηκαν κατά 9.1% στην ομάδα των 20 mg rimonabant ($p < 0.0001$). Αντίθετα, οι τιμές της TC και της LDL-C δεν επηρεάστηκαν σημαντικά.

Συγκριτικά με το εικονικό φάρμακο, ο επιπολασμός του μεταβολικού συνδρόμου ήταν χαμηλότερος στην ομάδα που έλαβε 20 mg rimonabant ($p = 0.02$), ενώ τα επίπεδα της υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσας πρωτεΐνης [high sensitivity (hs-CRP)] και της λεπτίνης μειώθηκαν κατά 1.4 mg/L ($p = 0.02$) και 0.3 ng/mL ($p < 0.0001$), αντίστοιχα στην ίδια ομάδα [213].

Τα παραπάνω δεδομένα αντικατοπτρίζουν μια κλινικά σημαντική απώλεια βάρους στους ασθενείς με ΣΔ, αν λάβουμε μάλιστα υπόψη την αντίσταση που παρουσιάζουν οι συγκεκριμένοι ασθενείς στην απώλεια βάρους, καθώς και το γεγονός ότι οι σουλφονουλιδίες που λάμβαναν ορισμένοι ασθενείς συχνά αυξάνουν το ΣΒ. Επιπλέον, ο γλυκαιμικός έλεγχος, το λιπιδαιμικό προφίλ και ορισμένοι καρδιομεταβολικοί παράγοντες κινδύνου βελτιώθηκαν.

Σε αυτό το σημείο πρέπει να αναφερθούν οι ανεπιθύμητες ενέργειες που παρατηρήθηκαν με το rimonabant στις παραπάνω μελέτες. Οι συχνότερες αφορούσαν το γαστρεντερικό σύστημα και περιελάμβαναν ναυτία, διάρροια, εμέτους και γαστρεντερίτιδα. Ακολουθούσαν οι ψυχιατρικές διαταραχές, ιδιαίτερα η καταθλιπτική διάθεση και το άγχος. Παρόλα αυτά δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές στις κλίμακες που χρησιμοποιήθηκαν για να εκτιμηθούν η κατάθλιψη και το άγχος. Άλλες ανεπιθύμητες ενέργειες ήταν αρθραλγίες, κεφαλαλγία, ζάλη, αϋπνία, κόπωση, γρίπη και λοιμώξεις του ανώτερου αναπνευστικού συστήματος. Συνήθως όμως ήταν παροδικές και εμφανίζονταν στην αρχή της αγωγής. Το ποσοστό διακοπής της αγωγής ήταν ελαφρώς υψηλότερο στην ομάδα των ασθενών στους οποίους χορηγήθηκαν 20 mg rimonabant σε όλες τις μελέτες και αποδόθηκε κυρίως σε ναυτία, άγχος, καταθλιπτική διάθεση και ζάλη.

3.1.3.5 SERENADE

Μία άλλη μελέτη σε διαβητικούς ασθενείς ήταν η Study Evaluating Rimonabant Efficacy in Drug-Naive Diabetic Patients (SERENADE), μία διπλά τυφλή ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο μελέτη στην οποία διερευνήθηκε η επίδραση του rimonabant σε ασθενείς με ΣΔ2 και HbA1c 7-10%, οι οποίοι δεν λάμβαναν αντιδιαβητική αγωγή [214]. Το πρωτογενές καταληκτικό σημείο ήταν η μεταβολή της HbA1c. Δευτερογενή καταληκτικά σημεία ήταν το ποσοστό των ασθενών που θα πετύχουν το στόχο της HbA1c και οι μεταβολές των παρακάτω παραμέτρων: του ΣΒ, της περιμέτρου μέσης, της γλυκόζης και της ινσουλίνης νηστείας, του δείκτη HOMA-IR, του λιπιδαιμικού προφίλ, της ΑΠ, του λόγου

αλβουμίνης/κρεατινίνη ούρων, της αδιπονεκτίνης, της γκρελίνης, της λεπτίνης και της λειτουργικότητας των β-κυττάρων. Συνολικά τυχαιοποιήθηκαν 281 ασθενείς και από αυτούς ολοκλήρωσαν τη μελέτη οι 236. Το 90% των ασθενών ήταν υπέρβαροι ή παχύσαρκοι και η μέση HbA1c ήταν 7,9% πριν την έναρξη της μελέτης [214].

Η αγωγή με το rimonabant οδήγησε σε μεγαλύτερη ελάττωση της HbA1c σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο (-0.8% έναντι -0.3%; $p = 0.0002$) και η μεταβολή αυτή ήταν πιο εκσεσημασμένη στους ασθενείς με $HbA1c \geq 8,5\%$. Παράλληλα, περισσότεροι ασθενείς στην ομάδα του rimonabant πέτυχαν επίπεδα $HbA1c < 7\%$ (51 έναντι 35%; $p = 0.0122$). Η γλυκόζη νηστείας ελαττώθηκε μόνο με το rimonabant (-0.9 έναντι +0.1 mmol/L; $p = 0.0012$). Επιπρόσθετα, η αγωγή με rimonabant οδήγησε σε σημαντική ελάττωση της συγκέντρωσης της προϊνσουλίνης και του λόγου προϊνσουλίνης/ινσουλίνη (-23.6 έναντι -9.1 pmol/L; $p = 0.0041$ και -0,17 έναντι -0,04; $p = 0.0135$, αντίστοιχα) καθώς και σε βελτίωση του δείκτη HOMA-IR (-1,9 έναντι +0,3; $p = 0.0098$) [214].

Η απώλεια βάρους και η μείωση της περιμέτρου μέσης ήταν μεγαλύτερες με το rimonabant σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο (-6.7 kg έναντι -2.8 kg και -6 έναντι -2 εκ, αντίστοιχα; $p < 0.0001$ και για τις δύο μεταβολές). Μάλιστα, οι μεταβολές αυτές συνοδεύονταν από ελάττωση των επιπέδων της λεπτίνης και αύξηση των επιπέδων της αδιπονεκτίνης στην ομάδα του rimonabant (-7 έναντι -2 ng/mL; $p < 0.0001$ και +1.6 έναντι -0.2 μg/mL; $p = 0.0001$, αντίστοιχα). Αντίθετα, η συγκέντρωση της γκρελίνης δεν παρουσίασε σημαντική μεταβολή [214].

Οι μεταβολές του λιπιδαιμικού προφίλ επίσης ήταν ευνοϊκότερες στους ασθενείς που έλαβαν ενεργό θεραπεία. Συγκεκριμένα, η αγωγή με rimonabant οδήγησε σε μεγαλύτερη αύξηση της HDL-C σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο (+10.1 έναντι +3.2%; $p < 0.0001$), καθώς και σε ελάττωση των TG και της non-HDL-C, τα οποία αυξήθηκαν στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου (-16.3 έναντι +4.4%; $p = 0.0031$ και -4,64 έναντι +2,72%; $p = 0.0462$, αντίστοιχα). Τα επίπεδα της TC και της LDL-C παρέμειναν αμετάβλητα. Ωστόσο, το μέγεθος των LDL σωματιδίων αυξήθηκε σημαντικά στην ομάδα του rimonabant (+0.6%; $p = 0.0008$ έναντι του εικονικού φαρμάκου). Τέλος, ευνοϊκότερες μεταβολές στους αθηρωματικούς δείκτες TC/HDL-C και ApoB/ApoA1 παρατηρήθηκαν με την ενεργό θεραπεία σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο (-0,45 έναντι -0,08; $p = 0.0002$ και -0,03 έναντι +0,02; $p = 0.0045$, αντίστοιχα) [214].

Η συστολική και διαστολική ΑΠ, η καρδιακή συχνότητα, η νεφρική λειτουργία και ο λόγος αλβουμίνης/κρεατινίνη ούρων δεν επηρεάστηκαν από τη θεραπεία [214].

Ενδιαφέρον εύρημα της μελέτης αποτελεί η ελάττωση της αμινοτρανσφεράσης της αλανίνης (ALT) που παρατηρήθηκε στην ομάδα του rimonabant, η οποία πιθανά συσχετίζεται με την απώλεια βάρους και την ενδεχόμενη βελτίωση της λιπώδους διήθησης που συνήθως εμφανίζουν οι υπέρβαροι και παχύσαρκοι ασθενείς [214].

Οι συνηθέστερες ανεπιθύμητες ενέργειες στους ασθενείς που έλαβαν rimonabant ήταν η ναυτία, η ζάλη, οι λοιμώξεις του ανώτερου αναπνευστικού συστήματος, το άγχος και η καταθλιπτική συμπτωματολογία και ήταν στην πλειοψηφία τους ήπιες ή μέτριας βαρύτητας. Συνολικά το 17.4% των ασθενών στην ομάδα του rimonabant έναντι του 10.7% στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου εμφάνισαν ψυχιατρικές διαταραχές. Γενικά δεν παρατηρήθηκε υπογλυκαιμία, με εξαίρεση ένα ήπιο υπογλυκαιμικό επεισόδιο σε δύο ασθενείς, έναν σε κάθε ομάδα. Η διακοπή της αγωγής εξαιτίας ανεπιθύμητων ενεργειών ήταν λίγο υψηλότερη στην ομάδα του rimonabant [214].

Συμπερασματικά, η θεραπεία με rimonabant βελτίωσε σημαντικά τα σωματομετρικά χαρακτηριστικά και τις μεταβολικές παραμέτρους (λιπιδαιμικό προφίλ, αντίσταση στην ινσουλίνη) σε υπέρβαρους και παχύσαρκους ασθενείς με αρρυθμιστο ΣΔ2.

3.1.3.6 ARPEGGIO

Η τελευταία μελέτη του rimonabant σε διαβητικούς ασθενείς είναι η μελέτη ARPEGGIO. Σε αυτή τη μελέτη 366 διαβητικοί ασθενείς υπό αγωγή με ινσουλίνη και $HbA1c \geq 7\%$ τυχαιοποιήθηκαν σε rimonabant (20 mg) ή εικονικό φάρμακο για 48 εβδομάδες [215]. Το πρωτογενές καταληκτικό σημείο ήταν η μεταβολή της $HbA1c$, ενώ η μεταβολή του ΣΒ, της περιμέτρου μέσης και του λιπιδαιμικού προφίλ συμπεριλαμβάνονταν στα δευτερογενή καταληκτικά σημεία. Συνολικά 284 ασθενείς ολοκλήρωσαν τη μελέτη. Η αγωγή με το rimonabant οδήγησε σε σημαντική ελάττωση της $HbA1c$ (-0.89% έναντι -0.24% με το εικονικό φάρμακο; $p < 0.0001$), ενώ περισσότεροι ασθενείς που έλαβαν ενεργό θεραπεία πέτυχαν το στόχο όσον αφορά τη $HbA1c$. Οι μεγαλύτερες μειώσεις $HbA1c$ παρατηρήθηκαν στους ασθενείς με τα υψηλότερα αρχικά επίπεδα $HbA1c$. Επιπλέον, στην ομάδα του rimonabant παρατηρήθηκε ελάττωση της συνολικής καθημερινής δόσης ινσουλίνης που λάμβαναν οι ασθενείς (μέση μεταβολή -2.71 έναντι +0,21; $p = 0.0004$). Παράλληλα, περισσότεροι ασθενείς σε αυτή την ομάδα πέτυχαν $>10\%$ μείωση της μέσης δόσης της ινσουλίνης ($p = 0.0012$ έναντι του εικονικού φαρμάκου) και λιγότεροι ασθενείς χρειάστηκαν θεραπεία διάσωσης (αύξηση της δόσης της ινσουλίνης ή χορήγηση

αντιδιαβητικών δισκίων) (14% έναντι 34,9%, $p < 0.0001$ έναντι του εικονικού φαρμάκου) [215].

Στην ομάδα του rimonabant παρατηρήθηκαν σημαντικότερες μεταβολές στο ΣΒ (-2.49 έναντι +0.13 kg; $p < 0.0001$), την περίμετρο μέσης (-2,95 έναντι -0,33 εκ; $p < 0.0001$), τα επίπεδα της γλυκόζης νηστείας (-1.85 έναντι -0.63 mmol/L; $p = 0.02$), της HDL-C (+3,14 έναντι -7,14%; $p < 0.0001$) και των TG (-3,99 έναντι +7,64% $p = 0.02$), καθώς και στο λόγο TC/HDL-C (-0,01 έναντι +0,38; $p = 0.0012$) σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο [215]. Εντούτοις, η απώλεια βάρους ήταν μικρότερη σε σύγκριση με άλλες μελέτες του rimonabant στις οποίες οι ασθενείς ήταν μη διαβητικοί ή λάμβαναν αντιδιαβητικά δισκία. Πιθανά η χορήγηση ινσουλίνης εξασθένησε την επίδραση του rimonabant στην απώλεια βάρους.

Η υπογλυκαιμία, η ναυτία, η ζάλη, το άγχος και η κατάθλιψη ήταν συχνότερα στην ομάδα του rimonabant. Ωστόσο, η επίπτωση των σοβαρών ανεπιθύμητων ενεργειών δεν διέφεραν σημαντικά στις δύο ομάδες [215].

3.1.3.7 ADAGIO-Lipids

Στη μελέτη ADAGIO-Lipids 803 ασθενείς με σπλαγγνική παχυσαρκία και αθηρογόνο δυσλιπιδαιμία (TG = 150-700 mg/dL και HDL-C <40 mg/dL για τους άντρες και <50 mg/dL για τις γυναίκες) τυχαιοποιήθηκαν σε αγωγή με rimonabant (20 mg) ή εικονικό φάρμακο για ένα έτος [216]. Το πρωτογενές καταληκτικό σημείο ήταν η μεταβολή της HDL-C και των TG, ενώ στα δευτερογενή καταληκτικά σημεία συμπεριλαμβάνονταν οι μεταβολές των υπολοίπων παραμέτρων του λιπιδαιμικού προφίλ, της αδιπονεκτίνης, της γλυκόζης, της ινσουλίνης, της hs-CRP, του ΣΒ και της περιμέτρου μέσης. Επιπρόσθετα, σε 231 ασθενείς της μελέτης εκτιμήθηκαν το ενδοκοιλιακό (σπλαγγνικό) και το ηπατικό λίπος με αξονική τομογραφία πριν και μετά τη θεραπεία [216].

Η αγωγή με rimonabant οδήγησε σε σημαντικές μεταβολές στις λιπιδαιμικές παραμέτρους σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο. Συγκεκριμένα, η αύξηση της HDL-C και η ελάττωση των TG ήταν μεγαλύτερες στην ομάδα του rimonabant σε σύγκριση με την ομάδα του εικονικού φαρμάκου (+8,7 έναντι +1,8% και -19,5 έναντι -2,7%, αντίστοιχα; $p < 0.0001$ και για τις δύο μεταβολές). Αντίστοιχες ήταν κι οι αυξήσεις στα επίπεδα της ApoA1 και στο μέγεθος των HDL σωματιδίων (+3,9 έναντι +0,7%; $p = 0.018$ και +0,9 έναντι +0,1%; $p = 0.0009$ σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο). Επιπρόσθετα, οι αθηρωματικοί δείκτες TC/HDL και ApoB/ApoA1, τα επίπεδα της ApoB και το ποσοστό

των sdLDL σωματιδίων ελαττώθηκαν περισσότερο με το rimonabant σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο (-0,46 έναντι -0,18; $p < 0.0001$, -0,07 έναντι -0,01; $p < 0.0001$, -4,5 έναντι -0,3%; $p = 0.0054$ και -7,8 έναντι -2,4%; $p < 0.0001$, αντίστοιχα). Κατ' αντιστοιχία παρατηρήθηκε μεγαλύτερη αύξηση του μεγέθους των LDL σωματιδίων και της αναλογίας των μεγάλων LDL σωματιδίων στην ομάδα του rimonabant (+0,7 έναντι +0,2% και +6,8 έναντι +2,6%, αντίστοιχα; $p < 0.0001$ και για τις δύο μεταβολές) [216].

Παράλληλα, η θεραπεία με rimonabant οδήγησε σε βελτίωση του μεταβολισμού των υδατανθράκων, δεδομένου ότι το φάρμακο ελάττωσε τα επίπεδα της γλυκόζης και της ινσουλίνης νηστείας, καθώς και σε μείωση της ΑΠ και της συγκέντρωσης της hs-CRP. Όσον αφορά τα σωματομετρικά χαρακτηριστικά, παρατηρήθηκαν μεγαλύτερες μεταβολές του ΣΒ και της περιμέτρου μέσης στην ομάδα του ενεργού φαρμάκου (-5,8 έναντι -2% και -5,5 έναντι -2,9%; $p < 0.0001$ και για τις δύο μεταβολές σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο). Επιπλέον, παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση στη συγκέντρωση της αδιπνεκτίνης στους ασθενείς που έλαβαν rimonabant (+23 έναντι +5,1%; $p < 0.0001$) [216].

Τέλος, η αγωγή με rimonabant συσχετίστηκε με μεγαλύτερη ελάττωση του σπλαγγικού (-16 έναντι -5.9%; $p = 0.0003$) και του υποδόριου (-9.7 έναντι -4.7%; $p = 0.0043$) λίπους. Η απώλεια λίπους αφορούσε κυρίως το σπλαγγικό λίπος που είναι και το πιο επιβλαβές [216]. Το 44% των ασθενών στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου και το 53% των ασθενών στην ομάδα του rimonabant είχαν δείκτη λιπώδους διήθησης του ήπατος (fatty liver index) < 1 . Ο δείκτης αυτός αποτελεί έναν απλό και ακριβή προγνωστικό δείκτη της ηπατικής στεάτωσης στο γενικό πληθυσμό και στηρίζεται σε ένα πολυπαραγοντικό μοντέλο το οποίο λαμβάνει υπόψη την περίμετρο μέσης, το BMI, τα επίπεδα των TG και την ενεργότητα της γ-γλουταμυλ-τρανσπεπτιδάσης (γ-GT). Μία τιμή μικρότερη από τη μονάδα θεωρείται διαγνωστική για τη λιπώδη διήθηση του ήπατος. Ο δείκτης αυτός αυξήθηκε περισσότερο στην ομάδα του rimonabant σε σύγκριση με την ομάδα του εικονικού φαρμάκου μετά από ένα χρόνο θεραπείας (+0.16 έναντι +0.05; $p = 0.0017$) [216]. Επιπρόσθετα, το 48% των ασθενών στην ομάδα του rimonabant αλλά μόνο το 19% των ασθενών στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου με διάγνωση λιπώδους διήθησης του ήπατος κατά την έναρξη της μελέτης εμφάνισαν αύξηση αυτού του δείκτη στις «φυσιολογικές» τιμές (> 1). Τέλος, τα επίπεδα της ALT ελαττώθηκαν περισσότερο με το rimonabant σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο (-15.4 έναντι -3,5%; $p < 0.0001$) [216].

Η θεραπεία με rimonabant γενικά έγινε αρκετά καλά ανεκτή. Η επίπτωση των επειγόντων ανεπιθύμητων ενεργειών ήταν ελάχιστα υψηλότερη στην ομάδα του rimonabant, ενώ η επίπτωση των σοβαρών ανεπιθύμητων ενεργειών ήταν ίδια στις δύο ομάδες. Η διακοπή της αγωγής εξαιτίας ανεπιθύμητων ενεργειών ήταν λίγο υψηλότερη στην ομάδα του rimonabant. Οι συνηθέστερες από αυτές ήταν γαστρεντερικές διαταραχές, άγχος και καταθλιπτική συμπτωματολογία και κατά κανόνα ήταν ήπιας ή μέτριας βαρύτητας [216].

Δύο μελέτες διερεύνησαν την επίδραση του rimonabant στην εξέλιξη της αθηρωματικής νόσου, όπως αυτή εκτιμήθηκε με ενδοστεφανιαίο υπέρηχο και υπέρηχο καρωτίδων.

3.1.3.8 STRADIVARIUS

Η Strategy to Reduce Atherosclerosis Development Involving Administration of Rimonabant-The Intravascular Ultrasound Study (STRADIVARIUS), συνέκρινε την επίδραση του rimonabant με την αντίστοιχη του εικονικού φαρμάκου στον αθηρωματικό όγκο στα στεφανιαία αγγεία [217]. Συγκεκριμένα, 839 ασθενείς με σπλαγχνική παχυσαρκία και μεταβολικό σύνδρομο που πήραν διατροφικές συμβουλές τυχαιοποιήθηκαν σε rimonabant (20 mg) ή εικονικό φάρμακο και υπεβλήθησαν σε ενδοστεφανιαίο υπέρηχο κατά την έναρξη (N = 839) και την ολοκλήρωση της μελέτης στους 18 μήνες (N = 676). Το πρωτογενές καταληκτικό σημείο ήταν η μεταβολή του ποσοστού του αθηρωματικού όγκου (percent atheroma volume; PAV) και το δευτερογενές καταληκτικό σημείο ήταν η μεταβολή του συνολικού αθηρωματικού όγκου (total atheroma volume; TAV) [217].

Στην ομάδα του rimonabant παρατηρήθηκε μεγαλύτερη απώλεια βάρους και ελάττωση της περιμέτρου μέσης, καθώς και σημαντικότερες μειώσεις στα επίπεδα των TG, της hs-CRP και της ινσουλίνης σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο. Επιπρόσθετα, η θεραπεία με rimonabant οδήγησε σε μεγαλύτερη αύξηση της HDL-C και σε μικρότερη αύξηση της HbA1c σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο. Αντίθετα, τα επίπεδα της LDL-C και της ΑΠ δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ των ομάδων [217].

Η μέση μεταβολή του PAV ήταν 0.25% (-0.04 με 0.54%) στην ομάδα του rimonabant και 0.51% (0.22-0.80%; $p < 0.001$ σε σύγκριση με τα αρχικά επίπεδα) στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου ($p = 0.22$ μεταξύ των δύο ομάδων). Οι αντίστοιχες μεταβολές του TAV ήταν -2.2 mm^3 στην ομάδα του rimonabant (-4.09 με -0.24 ; $p = 0.03$ σε σύγκριση με τα αρχικά επίπεδα) και 0.88 mm^3 στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου (-1.03 με 2.79)

[$p = 0.03$ μεταξύ των δύο ομάδων] [217]. Συμπερασματικά, η αγωγή με rimonabant δεν μετέβαλε την αθηρωματική νόσο στα στεφανιαία αγγεία. Ωστόσο, ήταν ενθαρρυντικά τα αποτελέσματα όσον αφορά το δευτερογενές καταληκτικό σημείο (μείωση του συνολικού αθηρωματικού όγκου).

Οι κυριότερες ανεπιθύμητες ενέργειες που απαιτούσαν επείγουσα αντιμετώπιση ήταν οι ψυχιατρικές διαταραχές (43,4% στην ομάδα του rimonabant και 28,4% στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου; $p < 0.001$), με συνηθέστερες την αγχώδη και καταθλιπτική συμπτωματολογία. Ωστόσο, η συχνότητα των σοβαρών ψυχιατρικών διαταραχών [μείζων κατάθλιψη, αυτοκτονικός ιδεασμός ή απόπειρα (πετυχημένη ή μη) αυτοκτονίας] δεν διέφερε σημαντικά στις δύο ομάδες (4,7% και 3,8%, αντίστοιχα; $p = 0.52$). Επιπρόσθετα, οι γαστρεντερικές διαταραχές ήταν συχνότερες στους ασθενείς που έλαβαν rimonabant σε σύγκριση με τους ασθενείς που έλαβαν εικονικό φάρμακο (33,6% έναντι 17,8%; $p < 0.001$). Όπως στις περισσότερες μελέτες του rimonabant, η διακοπή της αγωγής εξαιτίας ανεπιθύμητων ενεργειών ήταν λίγο υψηλότερη στην ομάδα του rimonabant σε σύγκριση με την αντίστοιχη στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου [217].

3.1.3.9 AUDITOR

Στη μελέτη Atherosclerosis Underlying Development assessed by Intima-media Thickness in patients On Rimonabant (AUDITOR) 661 ασθενείς με σπλαγγνική παχυσαρκία και μεταβολικό σύνδρομο τυχαιοποιήθηκαν σε rimonabant (20 mg) ή εικονικό φάρμακο για 30 μήνες [218]. Το πρωτογενές καταληκτικό σημείο ήταν η μεταβολή του πάχους του έσω-μέσου χιτώνα των καρωτίδων (carotid intima media thickness; cIMT). Μεταξύ των δευτερογενών καταληκτικών σημείων της μελέτης ήταν η πρώτη εμφάνιση οποιουδήποτε από τα παρακάτω: ΑΕΕ, εμφράγματος του μυοκαρδίου, νοσηλείας για επέμβαση επαναγγείωσης, ασταθούς στηθάγχης, παροδικού ισχαιμικού επεισοδίου ή καρδιαγγειακού θανάτου [218].

Οι μειώσεις του ΣΒ και της περιμέτρου μέσης ήταν μεγαλύτερες στην ομάδα του rimonabant σε σύγκριση με τις αντίστοιχες στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου ($p < 0.0001$ και για τις δύο μεταβολές). Τα επίπεδα της HDL-C αυξήθηκαν με το rimonabant, ενώ αντίθετα ελαττώθηκαν με το εικονικό φάρμακο ($p < 0.0001$ μεταξύ των ομάδων). Η συστολική και διαστολική ΑΠ ελαττώθηκαν περισσότερο με την ενεργό θεραπεία, αλλά η μεταβολή αυτή δεν ήταν στατιστικά σημαντική. Ομοίως δεν υπήρχε σημαντική διαφορά στη μεταβολή της LDL-C ανάμεσα στις δύο ομάδες. Ωστόσο, το

rimonabant οδήγησε σε μεγαλύτερη ελάττωση των επιπέδων της hs-CRP ($p = 0.03$ σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο) και της HbA1c ($p = 0.08$ σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο) [218].

Η απόλυτη μεταβολή του cIMT, η οποία εκτιμήθηκε με τη μεταβολή της μέσης τιμής 6 καρωτιδικών τμημάτων ανά scan που ελήφθησαν ανά ασθενή, στους 30 μήνες ήταν 0.010 ± 0.095 mm στην ομάδα του rimonabant και 0.012 ± 0.091 mm στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου ($p = 0.67$). Η μέση ετήσια εξέλιξη του cIMT ήταν 0.005 ± 0.042 mm και 0.007 ± 0.043 mm στις δύο ομάδες, αντίστοιχα ($p = 0.45$). Επιπλέον, δεν παρατηρήθηκε διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων στην εμφάνιση νέου AEE, εμφράγματος του μυοκαρδίου ή καρδιαγγειακού θανάτου ($p = 0.43$) [218].

Οι ανεπιθύμητες ενέργειες ήταν συχνότερες στην ομάδα του rimonabant και αφορούσαν κυρίως νευροψυχιατρικές και γαστρεντερικές διαταραχές. Παράλληλα, η διακοπή της αγωγής εξαιτίας ανεπιθύμητων ενεργειών ήταν λίγο υψηλότερη στην ομάδα του rimonabant σε σύγκριση με την αντίστοιχη του εικονικού φαρμάκου. Ωστόσο, η επίπτωση των σοβαρών ανεπιθύμητων ενεργειών ήταν παρόμοια στις δύο ομάδες [218].

Όπως και στη μελέτη STRADIVARIUS, έτσι και σε αυτή τη μελέτη οι ευνοϊκές μεταβολικές επιδράσεις του rimonabant δεν συσχετίστηκαν με βελτίωση στην εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης.

3.1.3.10 CRESCENDO

Η μοναδική μελέτη του rimonabant η οποία είχε ως καταληκτικό σημείο την εμφάνιση καρδιαγγειακών συμβαμάτων ήταν η Comprehensive Rimonabant Evaluation Study of Cardiovascular Endpoints and Outcomes (CRESCENDO) [219]. Σε αυτή τη μελέτη 18.695 ασθενείς υψηλού καρδιαγγειακού κινδύνου ή με γνωστή καρδιαγγειακή νόσο τυχαιοποιήθηκαν σε αγωγή με rimonabant (20 mg, $N = 9381$) ή εικονικό φάρμακο ($N = 9314$). Το πρωτογενές καταληκτικό σημείο ήταν ο συνδυασμός καρδιαγγειακού θανάτου, εμφράγματος του μυοκαρδίου και AEE [219].

Μετά από μία μέση παρακολούθηση 13,8 μηνών η μελέτη τερματίστηκε πρόωρα εξαιτίας ανησυχίας που διατύπωσαν οι ρυθμιστικές αρχές υγείας (health regulatory authorities) αναφορικά με τον αυξημένο κίνδυνο αυτοκτονιών στα άτομα που λάμβαναν rimonabant. Κατά το κλείσιμο της μελέτης (Νοέμβριος 2008) είχε ολοκληρωθεί η στρατολόγηση των ασθενών και το πρωτογενές καταληκτικό σημείο είχε παρατηρηθεί σε 364 (3,9%) ασθενείς στην ομάδα του rimonabant και 375 (4%) ασθενείς στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου

[αναλογία κινδύνου (hazard ratio; HR) 0.97, 95% CI 0.84–1.12, $p = 0.68$] [219]. Ο συνολικός αριθμός των συμβαμάτων ήταν πολύ μικρότερος από τον αναμενόμενο από το σχεδιασμό της μελέτης (1600), ενώ τα συμβάματα ήταν πολύ περισσότερα στα άτομα με γνωστή καρδιαγγειακή νόσο σε σύγκριση με τα άτομα που είχαν μόνο παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου. Στην ομάδα του rimonabant παρατηρήθηκαν περισσότερες γαστρεντερικές, νευροψυχιατρικές και σοβαρές ψυχιατρικές ανεπιθύμητες ενέργειες, συμπεριλαμβανομένων 4 αυτοκτονιών, σε σύγκριση με την ομάδα του εικονικού φαρμάκου, στην οποία ένας ασθενής επίσης αυτοκτόνησε [219]. Επομένως, η επίδραση του rimonabant στην εμφάνιση καρδιαγγειακών συμβαμάτων δεν μπόρεσε να διερευνηθεί επαρκώς.

3.1.3.11 *CARDIO-REDUCE*

Μια μελέτη φάσης 4 εκτίμησε την αποτελεσματικότητα του rimonabant σε συνδυασμό με τη συμβουλευτική για τον τρόπο ζωής (lifestyle counseling) στην καθημερινή κλινική πρακτική [220]. Η συγκεκριμένη μελέτη (παρόλο που ήταν φάσης 4) ξεκίνησε πριν κυκλοφορήσει το φάρμακο και η υπόθεσή της ήταν ότι η αποτελεσματικότητα στη φάση 4 θα ήταν μικρότερη σε σύγκριση με τη φάση 3, εξαιτίας των διαφορετικών συνθηκών θεραπείας και της διαφορετικής επιλογής ασθενών. Στη μελέτη συμμετείχαν 222 ασθενείς με αυξημένη περιμέτρο μέσης και υπεργλυκαιμία ή ΣΔ2, οι οποίοι τυχαιοποιήθηκαν σε αγωγή με rimonabant (20 mg) ή εικονικό φάρμακο για ένα χρόνο. Όλοι οι ασθενείς έλαβαν υγιεινοδιαιτητικές οδηγίες [220].

Παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές του ΣΒ, του BMI και της περιμέτρου μέσης με τη χορήγηση του rimonabant σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο στον ένα χρόνο ($p < 0.001$ για όλες τις μεταβολές). Το ποσοστό των ασθενών που πέτυχαν απώλεια βάρους ίση ή μεγαλύτερη από το 5% του αρχικού σωματικού τους βάρους ήταν 45.7% στην ομάδα του rimonabant και 9.2% στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου ($p < 0.001$). Όσον αφορά το λιπιδαιμικό προφίλ, οι ασθενείς που έλαβαν rimonabant εμφάνισαν μεγαλύτερη αύξηση της HDL-C ($p = 0.009$), όμως παρατηρήθηκε μικρότερη ελάττωση των TG ($p = 0.035$) σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο, ενώ δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές των υπόλοιπων παραμέτρων. Επιπρόσθετα, η διαστολική ΑΠ ελαττώθηκε περισσότερο στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου ($p = 0.028$), ενώ δεν παρατηρήθηκε μεταβολή των επιπέδων της γλυκόζης νηστείας και της HbA1c με την ενεργό θεραπεία [220].

Στους ασθενείς που έλαβαν rimonabant ο 10ετής κίνδυνος εμφάνισης ΣΝ, ο οποίος εκτιμήθηκε με το United Kingdom Prospective Diabetes Study risk calculation, δεν μεταβλήθηκε, ενώ αντίθετα επιδεινώθηκε η ποιότητα ζωής, όπως αυτή εκτιμήθηκε με τα ερωτηματολόγια EuroQol και SF-36. Επομένως, η μελέτη αυτή επιβεβαίωσε ότι η αποτελεσματικότητα του rimonabant στην καθημερινή κλινική πρακτική είναι μικρότερη από αυτή που παρατηρείται στις περισσότερο ελεγχόμενες συνθήκες των κλινικών μελετών φάσης 3 [220].

Συμπερασματικά, η θεραπεία με rimonabant έχει συσχετισθεί με σημαντικές ευνοϊκές μεταβολές στις σωματομετρικές παραμέτρους, το λιπιδαιμικό προφίλ, το γλυκαιμικό έλεγχο και διάφορους άλλους καρδιομεταβολικούς παράγοντες κινδύνου, χωρίς όμως να έχει οδηγήσει σε βελτίωση της εξέλιξης της αθηρωματικής νόσου ή ελάττωση των καρδιαγγειακών συμβαμάτων.

3.2 ΦΑΙΝΟΦΙΜΠΡΑΤΗ

3.2.1 Γενικά

Η φαινοφιμπράτη είναι μία φιβράτη 3^{ης} γενιάς. Αποτελεί την περισσότερο συνταγογραφούμενη φιβράτη παγκοσμίως, με ενδείξεις για τη θεραπεία της υπερτριγλυκεριδαιμίας, της μικτής δυσλιπιδαιμίας και της χυλομικροναϊμίας [221].

3.2.2 Φαρμακοκινητική

Η φαινοφιμπράτη αποτελεί ένα μερικώς διαλυτό εστέρα του φαινοφιμπρικού οξέος, το οποίο αποτελεί τον ενεργό μεταβολίτη της. Μετά την πρόσληψή της από το στόμα, η φαινοφιμπράτη υδρολύεται από τις εστεράσες του εντερικού τοιχώματος σε φαινοφιμπρικό οξύ, οπότε το φάρμακο δεν ανιχνεύεται στο πλάσμα στην αρχική του μορφή [221]. Το φαινοφιμπρικό οξύ, στη συνέχεια, συνδέεται με το γλυκουρονικό οξύ στο ήπαρ και τελικά απεκκρίνεται στα ούρα. Σε υγιείς εθελοντές που έλαβαν φαινοφιμπράτη ανιχνεύθηκαν σταθερά επίπεδα του ενεργού μεταβολίτη της στο πλάσμα 5 ημέρες μετά την έναρξη της ημερήσιας χορήγησης, ενώ δεν παρατηρήθηκε αυξημένη συγκέντρωσή του μετά από επανειλημμένη χορήγηση [222]. Ο μέσος χρόνος βιοδιαθεσιμότητας του φαρμάκου είναι <16 ώρες, γεγονός που επιτρέπει την ημερήσια χορήγησης του [223].

Τα νεότερα σκευάσματα που κυκλοφορούν περιέχουν φαινοφιμπρικό οξύ, οπότε δεν υπόκεινται σε «προσυστηματικό» μεταβολισμό (presystematic or first-pass hepatic

metabolism), ενώ η αποτελεσματικότητά τους είναι εφάμιλλη με αυτή των σκευασμάτων που περιέχουν φαινοφιμπράτη [224].

3.2.3 Μηχανισμός δράσης

Η φαινοφιμπράτη δρα διαμέσου ενεργοποίησης ειδικών πυρηνικών υποδοχέων, των peroxisome proliferator activated receptors-alpha (PPAR- α). Αυτοί οι υποδοχείς εκφράζονται κυρίως σε ιστούς στους οποίους μεταβολίζονται τα ελεύθερα λιπαρά οξέα (ήπαρ, σκελετικοί μύες, καρδιά, νεφροί), καθώς και στις λείες μυϊκές ίνες του αγγειακού τοιχώματος [225]. Οι υποδοχείς PPAR- α , μετά την ενεργοποίηση τους από το φαινοφιμπρικό οξύ στο κυτταρόπλασμα, μεταναστεύουν στον πυρήνα, όπου σχηματίζουν ετεροδιμερή με τον υποδοχέα του ρετινοϊκού οξέος-X. Αυτά τα διμερή συνδέονται με συγκεκριμένες ακολουθίες DNA, με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση ή αναστολή της μεταγραφής γονιδίων που εμπλέκονται στο μεταβολισμό των λιπιδίων [226]. Συγκεκριμένα, οι φιβράτες διεγείρουν τη β -οξείδωση των λιπαρών οξέων στα ηπατοκύτταρα, ελαττώνοντας έτσι τη διαθεσιμότητα των λιπαρών οξέων για τη σύνθεση TG. Παράλληλα επιταχύνουν τον καταβολισμό των πλούσιων σε TG λιποπρωτεϊνών, αφενός ενεργοποιώντας τη LPL, η οποία υδρολύει τα TG των VLDL και των χυλομικρών, αφετέρου μειώνοντας την ηπατική σύνθεση της apoC-III, η οποία ελαττώνει την πρόσδεση των συγκεκριμένων λιποπρωτεϊνών με το ενδοθήλιο και τον καταβολισμό τους από τη LPL [227, 228]. Τέλος, οι φιβράτες αυξάνουν την έκφραση της apoA-V, μιας απολιποπρωτεΐνης η οποία διευκολύνει την επαγόμενη από τη LPL υδρόλυση των TG [229].

3.2.4 Επίδραση στο λιπιδαιμικό προφίλ

Η θεραπεία με φαινοφιμπράτη οδηγεί σε σημαντική ελάττωση των TG του πλάσματος, συγκεκριμένα κατά 20-50% [230, 231]. Όπως αναφέρθηκε, η υποτριγλυκεριδαιμική δράση των φιβρατών οφείλεται τόσο στη μειωμένη παραγωγή όσο και σε αυξημένο καταβολισμό των πλούσιων σε TG λιποπρωτεϊνών.

Η φαινοφιμπράτη αυξάνει τη συγκέντρωση της HDL-C κατά 10-50%, ανάλογα με το λιπιδαιμικό προφίλ και τα αρχικά επίπεδα της HDL-C (οι μεγαλύτερες αυξήσεις παρατηρούνται όταν τα αρχικά επίπεδα της HDL-C είναι <40 mg/dL) [230]. Η αύξηση της HDL-C αποδίδεται κυρίως στην ελάττωση των επιπέδων των VLDL, με αποτέλεσμα την ελάττωση των TG που αποτελούν υπόστρωμα για τη δράση της CETP και, επομένως, τη

μείωση της μεταφοράς χοληστερόλης από τα HDL στα VLDL σωματίδια [232, 233]. Επιπρόσθετα, οι φιβράτες ευοδώνουν τη σύνθεση της apoA-I και της apoA-II, των κύριων απολιποπρωτεϊνών των HDL σωματιδίων.

Όπως έχει αναφερθεί, οι αντιαθηρογόνες ιδιότητες των HDL σωματιδίων αποδίδονται κυρίως στα μικρά HDL υποκλάσματα, τα οποία είναι πιο αποτελεσματικοί υποδοχείς της χοληστερόλης και χαρακτηρίζονται από αυξημένες αντιοξειδωτικές ιδιότητες [27]. Η αύξηση της συγκέντρωσης της HDL-C με τη φαινοφιμπράτη οδηγεί κυρίως σε αύξηση των επιπέδων των μικρών HDL σωματιδίων στο πλάσμα [234]. Πιθανά αυτή η επίδραση οφείλεται στην αύξηση της μετατροπής των μεγάλων HDL σωματιδίων σε μικρά HDL σωματίδια διαμέσου της αύξησης της ενεργότητας της ηπατικής λιπάσης.

Επιπρόσθετα, η φαινοφιμπράτη μειώνει τα επίπεδα της LDL-C κατά 5-20% και της apoB [230, 231, 235]. Ωστόσο, μια μικρή αύξηση των επιπέδων της LDL-C μπορεί να παρατηρηθεί σε ασθενείς με σοβαρή υπερτριγλυκεριδαιμία, πιθανά ως αποτέλεσμα της αύξησης του καταβολισμού των πλούσιων σε TG λιποπρωτεϊνών και της επακόλουθης αύξησης των LDL [236].

Ανεξάρτητα από τις μεταβολές στη συγκέντρωση της LDL-C, η φαινοφιμπράτη αυξάνει το μέγεθος των LDL σωματιδίων και μεταβάλλει την κατανομή των LDL υποκλασμάτων από sdLDL σε μεγάλα και χαμηλότερης πυκνότητας σωματίδια. Μάλιστα, η επίδραση αυτή έχει παρατηρηθεί σε μελέτες που χρησιμοποίησαν διαφορετικές μεθόδους προσδιορισμού της κατανομής των LDL σωματιδίων [237].

Αξίζει να σημειωθεί ότι η φαινοφιμπράτη μειώνει τις VLDL, τα κατάλοιπα των VLDL και τις IDL τόσο σε περίοδο νηστείας όσο και μεταγευματικά [230, 238]. Εξαιτίας της αποτελεσματικότητάς της να ελαττώνει τα αθηρογόνα λιποπρωτεϊνικά κατάλοιπα, η φαινοφιμπράτη αποτελεί το φάρμακο εκλογής σε ασθενείς με υπερλιπιδαιμία τύπου III (δυσβηταλιποπρωτεϊναιμία) [239-241].

Σε μια ανάλυση της μελέτης Diabetes Atherosclerosis Intervention Study (DAIS) 204 ασθενείς με ΣΔ2 τυχαιοποιήθηκαν σε φαινοφιμπράτη (200 mg) ή εικονικό φάρμακο για τουλάχιστον 3 έτη (μέσος όρος 39,6 μήνες). Στην ομάδα της φαινοφιμπράτης παρατηρήθηκε σημαντική ελάττωση στις συγκεντρώσεις των TG και των λιποπρωτεϊνικών καταλοίπων, καθώς και σημαντική αύξηση των επιπέδων της HDL-C και συγκεκριμένα των μικρότερων HDL σωματιδίων. Τα ευρήματα αυτά είναι συμβατά με τις περισσότερες μελέτες με φαινοφιμπράτη, όπως αναφέρθηκε παραπάνω. Επιπλέον, στη μελέτη αυτή η φαινοφιμπράτη οδήγησε σε μείωση της ενεργότητας της Lp-PLA₂, σε σύγκριση με την

ομάδα του εικονικού φαρμάκου. Ωστόσο, σε αντίθεση με ορισμένες άλλες μελέτες, οι συγκεντρώσεις της LDL-C και των sdLDL σωματιδίων και ο γλυκαιμικός έλεγχος δεν παρουσίασαν σημαντικές μεταβολές με τη χορήγηση φαινοφιμπράτης [242].

Τέλος, αν και υπάρχουν κάποιες ενδείξεις ότι η φαινοφιμπράτη ελαττώνει τη συγκέντρωση της Lp(a), αυτό δεν έχει αποδειχθεί σε κάποιες μελέτες [243, 244].

Σύμφωνα με τα παραπάνω, η φαινοφιμπράτη αποτελεί χρήσιμη θεραπευτική επιλογή σε ασθενείς με μικτή δυσλιπιδαιμία και βελτιώνει το λιπιδαιμικό προφίλ των ασθενών με ΣΔ2 και μεταβολικό σύνδρομο, οι οποίοι συχνά έχουν τόσο ποσοτικές όσο και ποιοτικές διαταραχές των λιποπρωτεϊνών [222, 245, 246]. Εντούτοις, η δράση των φιβρατών φαίνεται ότι εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το λιπιδαιμικό φαινότυπο. Πράγματι, διάφορες μελέτες έδειξαν ότι η μείωση των TG με τη χορήγηση της φαινοφιμπράτης είναι ιδιαίτερα σημαντική σε ασθενείς με υπερτριγλυκεριδαιμία (σε ορισμένες περιπτώσεις παρατηρήθηκε μείωση >50%), ενώ είναι μικρότερη σε ασθενείς με υπερχοληστερολαιμία (συνήθως μείωση <30%) [243, 247]. Παράλληλα, η δυνατότητα της φαινοφιμπράτης να ελαττώνει την LDL-C εξαρτάται από τα αρχικά επίπεδα αυτής της παραμέτρου [247-249].

3.2.5 Επιδράσεις σε άλλες παραμέτρους

Η θεραπεία με φαινοφιμπράτη βελτιώνει το μεταβολισμό των υδατανθράκων σε ασθενείς με δυσλιπιδαιμία ή/και μεταβολικό σύνδρομο [250, 251]. Πιθανά, επειδή η υπερτριγλυκεριδαιμία συμβάλλει στην αντίσταση στην ινσουλίνη, η δράση αυτή της φαινοφιμπράτης επιτυγχάνεται διαμέσου της ελάττωσης των TG του πλάσματος.

Η φαινοφιμπράτη οδηγεί σε μείωση των επιπέδων του ουρικού οξέος στο πλάσμα, μια μείωση που οφείλεται στην αύξηση της νεφρικής του απέκκρισης [252, 253]. Η ελάττωση των επιπέδων του ουρικού οξέος που προκαλείται από τη φαινοφιμπράτη είναι ανεξάρτητη από τις μεταβολές των λιπιδαιμικών παραμέτρων [239, 254]. Αξίζει να σημειωθεί ότι η υποουριχαιμική δράση της φαινοφιμπράτης μπορεί να αποτελέσει αξιόπιστο δείκτη της συμμόρφωσης των ασθενών στη θεραπεία [255]. Τέλος, ο συνδυασμός της φαινοφιμπράτης με λοσαρτάνη, η οποία επίσης διαθέτει ουρικοζουρική δράση, συνοδεύεται από αθροιστική μείωση των επιπέδων του ουρικού οξέος του πλάσματος [256, 257]. Παράλληλα, υπάρχουν δεδομένα που υποστηρίζουν ότι η φαινοφιμπράτη ελαττώνει την ΑΠ, ένα εύρημα που πιθανά συσχετίζεται με τη βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας [258]. Επομένως, ο συνδυασμός φαινοφιμπράτης/ λοσαρτάνης αποτελεί μια

δόκιμη θεραπευτική επιλογή σε υπερτασικούς ασθενείς με μικτή δυσλιπιδαιμία και υψηλά επίπεδα ουρικού οξέος.

Η ενεργοποίηση των PPAR-α από την φαινοφιμπράτη μεταβάλλει την έκφραση ποικίλων γονιδίων που συμμετέχουν σε όλα τα στάδια της αθηρογένεσης, όπως η φλεγμονή, η αστάθεια της αθηρωματικής πλάκας και η θρόμβωση [259]. Πράγματι, η φαινοφιμπράτη έχει αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες, αφού αναστέλλει την παραγωγή κυτταροκινών, όπως η IL-6 και ο TNF-α, διαμέσου ελάττωσης της ενεργότητας του NF-κB [239, 260], ενώ επίσης μειώνει τα επίπεδα του ινωδογόνου [259] και της CRP [261, 262] στο πλάσμα. Η ελάττωση των επιπέδων της Lp-PLA₂, καθώς και η αύξηση της HDL-Lp-PLA₂ και της παραοξονάσης 1 (paraoxonase 1; PON1) μπορούν επίσης να συμπεριληφθούν στις αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες της φαινοφιμπράτης [247, 263-267]. Τέλος, η φαινοφιμπράτη εμφανίζει αντιοξειδωτική δράση και μειώνει τα επίπεδα του αμυλοειδούς A, την παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου και τη συγκέντρωση των προϊόντων οξείδωσης των λιπιδίων [239, 268].

Η φαινοφιμπράτη πιθανά επιβραδύνει την εξέλιξη της μη αλκοολικής στεατοηπατίτιδας, η οποία είναι συχνό εύρημα σε άτομα με μικτή δυσλιπιδαιμία, δεδομένου ότι ελαττώνει τα επίπεδα της αλκαλικής φωσφατάσης και της γ-GT [269].

Ένα εύρημα που παρατηρείται συχνά κατά τη διάρκεια της θεραπείας με φαινοφιμπράτη είναι η αύξηση της κρεατινίνης του ορού, η οποία όμως συνήθως υποχωρεί με τη διακοπή της φαρμακευτικής αγωγής και πιθανά δεν αντιπροσωπεύει νεφρική βλάβη [270, 271]. Μια πιθανή εξήγηση είναι ότι η φαινοφιμπράτη, διαμέσου της ενεργοποίησης των PPAR-α που ελαττώνουν την έκφραση του ενζύμου κυκλοοξυγενάση 2 (COX-2), αναστέλλει την παραγωγή των αγγειοδιασταλτικών προσταγλανδινών στο νεφρό [272]. Με αυτό τον τρόπο προκαλείται αγγειοσύσπαση στα νεφρικά αγγεία και επομένως μειώνεται η αιματική ροή στους νεφρούς. Παρά το γεγονός ότι η νεφρική λειτουργία συνήθως επανέρχεται μετά τη διακοπή του φαρμάκου, έχουν αναφερθεί περιπτώσεις μόνιμης αύξησης των επιπέδων της κρεατινίνης [239]. Συγκεκριμένα, έχουν καταγραφεί περιπτώσεις οξείας νεφρικής ανεπάρκειας μετά από μεταμόσχευση νεφρού ή επεμβάσεις στην καρδιά, καθώς και διάμεση νεφρίτιδα ή/και νεφρωσικό σύνδρομο. Επομένως, η φαινοφιμπράτη πρέπει να χρησιμοποιείται με προσοχή σε ασθενείς με νεφρική δυσλειτουργία και ιδιαίτερα σε ασθενείς με μεταμόσχευση νεφρού.

Σε δύο από τις μεγαλύτερες μελέτες με φαινοφιμπράτη, τη Fenofibrate Intervention and Event Lowering in Diabetes (FIELD) και την Action to Control Cardiovascular Risk in

Diabetes (ACCORD), η φαινοφιμπράτη όντως οδήγησε σε αύξηση της κρεατινίνης [273, 274]. Σε μία πρόσφατη ανάλυση της μελέτης FIELD, στην οποία 9795 ασθενείς με ΣΔ2 (50 - 75 ετών) έπειτα από μία περίοδο 6 εβδομάδων στην οποία έλαβαν φαινοφιμπράτη τυχαιοποιήθηκαν σε φαινοφιμπράτη ή εικονικό φάρμακο για 5 έτη, η κρεατινίνη του πλάσματος αυξήθηκε σημαντικά, αλλά γρήγορα επανήλθε στα αρχικά επίπεδα μετά την έναρξη χορήγησης του εικονικού φαρμάκου [275]. Ωστόσο, στην ομάδα της φαινοφιμπράτης παρατηρήθηκε μια κατά 24% ελάττωση του λόγου αλβουμίνης/κρεατινίνη ούρων, ενώ το αντίστοιχο ποσοστό ήταν 11% στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου ($p < 0.001$ για τη σύγκριση μεταξύ των δύο ομάδων). Φαίνεται, λοιπόν, ότι η φαινοφιμπράτη, παρά την αρχική αύξηση των επιπέδων της κρεατινίνης, μπορεί να καθυστερήσει την εξέλιξη της αλβουμινουρίας και της νεφρικής νόσου σε ασθενείς με ΣΔ2. Πρέπει, ωστόσο, να αναφερθεί ότι η επίπτωση της νεφρικής ανεπάρκειας τελικού σταδίου ήταν παρόμοια στις δύο ομάδες [275].

Η θεραπεία με φαινοφιμπράτη μπορεί επίσης να αυξήσει τα επίπεδα της ομοκυστεΐνης του πλάσματος [230]. Πιθανά ο υποκείμενος μηχανισμός είναι ο ίδιος με αυτόν που οδηγεί σε αύξηση της κρεατινίνης. Συγκεκριμένα, εικάζεται ότι η αναστολή της σύνθεσης των αγγειοδιασταλτικών προσταγλανδινών και η επακόλουθη μείωση του ρυθμού σπειραματικής διήθησης (glomerular filtration rate; GFR) οδηγεί σε ελάττωση της νεφρικής απέκκρισης της ομοκυστεΐνης [276, 277]. Αν και η προσθήκη βιταμινών, συγκεκριμένα φυλλικού οξέος, Β6 και Β12, προλαμβάνει την αύξηση της ομοκυστεΐνης από τη φαινοφιμπράτη [278], πιθανά αυτό δεν επαρκεί για να προληφθούν τα θρομβοεμβολικά και τα καρδιαγγειακά συμβάματα. Πράγματι, τα αποτελέσματα μελετών που διερεύνησαν την επίδραση της μείωσης των επιπέδων της ομοκυστεΐνης στα καρδιαγγειακά συμβάματα είναι αμφιλεγόμενα. Η μελέτη Homocysteine Studies Collaboration έδειξε 11% χαμηλότερο κίνδυνο εμφάνισης ισχαιμικής καρδιοπάθειας (OR 0.89; 95% CI 0.83-0.96) και 19% χαμηλότερο κίνδυνο εμφάνισης ΑΕΕ (OR 0.81; 95% CI 0.69-0.95) με μία κατά 25% ελάττωση των επιπέδων ομοκυστεΐνης [279]. Αντίθετα, σε μία μεγάλη τυχαιοποιημένη κλινική μελέτη η χορήγηση βιταμινών του συμπλέγματος Β δεν οδήγησε σε ελάττωση της εμφάνισης νέων καρδιαγγειακών συμβαμάτων μετά από οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου [Norwegian Vitamin (NORVIT) trial] [280]. Ομοίως, στη μελέτη Heart Outcomes Prevention Evaluation (HOPE)-2 η χορήγηση σκευάσματος που περιείχε φυλλικό οξύ και βιταμίνες Β₆ and Β₁₂ δεν ελάττωσε τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών συμβαμάτων σε ασθενείς με εγκατεστημένη καρδιαγγειακή νόσο [281].

Πιθανά η υπερομοκυστεϊναιμία να μην αποτελεί ένα τροποποιήσιμο παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου, αλλά ένα δείκτη υψηλού καρδιαγγειακού κινδύνου [282]. Όσον αφορά τον αυξημένο θρομβοεμβολικό κίνδυνο, στη μελέτη FIELD παρατηρήθηκε ότι η φαινοφιμπράτη ενδεχόμενα να προδιαθέτει άτομα με υψηλά αρχικά επίπεδα ομοκυστεϊνης για την εμφάνιση φλεβοθρόμβωσης. Ωστόσο, η αύξηση της συγκέντρωσης της ομοκυστεϊνης από τη φαινοφιμπράτη δεν συσχετίστηκε με αύξηση αυτού του κινδύνου [283].

3.2.6 Μεγάλες τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες-Η μελέτη FIELD

Στη μελέτη FIELD συμμετείχαν 9795 ασθενείς ηλικίας 50-75 ετών με ΣΔ2, από τους οποίους 2131 είχαν εγκατεστημένη καρδιαγγειακή νόσο [274]. Οι ασθενείς τυχαιοποιήθηκαν σε φαινοφιμπράτη (200 mg/ημέρα) ή εικονικό φάρμακο για 5 χρόνια. Το πρωταρχικό καταληκτικό σημείο (οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου ή θάνατος από καρδιαγγειακή νόσο) παρατηρήθηκε σε 288 ασθενείς στην ομάδα ελέγχου και σε 259 ασθενείς στην ομάδα της φαινοφιμπράτης (σχετική μείωση 11%, $p = 0.16$). Ωστόσο, τα συνολικά καρδιαγγειακά επεισόδια (καρδιαγγειακός θάνατος, οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου, ΑΕΕ και στεφανιαία ή κρωτιδική επαναγγείωση) μειώθηκαν κατά 11% ($p = 0.035$). Αυτό το εύρημα αποδίδεται κυρίως στην ελάττωση των μη θανατηφόρων εμφραγμάτων του μυοκαρδίου (-24%, $p = 0.01$) και των στεφανιαίων επαναγγειώσεων (-21%, $p = 0.003$). Η θνησιμότητα ήταν 6.6% στην ομάδα ελέγχου και 7.3% στην ομάδα της φαινοφιμπράτης ($p = 0.18$). Ωστόσο, περισσότεροι ασθενείς στην ομάδα ελέγχου (17%) λάμβαναν επιπρόσθετη υπολιπιδαιμική θεραπεία, κυρίως στατίνες, σε σύγκριση με τους ασθενείς στην ομάδα της φαινοφιμπράτης (8%) ($p < 0.001$), ένα γεγονός που πιθανά αποδυνάμωσε το κλινικό όφελος από τη χορήγηση φαινοφιμπράτης. Μια δεύτερη πιθανή εξήγηση για τη μικρή επίδραση της φαινοφιμπράτης στα καρδιαγγειακά συμβάματα μπορεί να είναι η μικρή διαφορά στην τελική συγκέντρωση της HDL-C ανάμεσα στις δυο ομάδες.

Ωστόσο, μια εκ των υστέρων (*posthoc*) ανάλυση της μελέτης FIELD έδειξε ελάττωση των καρδιαγγειακών συμβαμάτων στους ασθενείς που είχαν επίπεδα TG ≥ 200 mg/dL ανεξάρτητα από τα επίπεδα της HDL-C [284]. Ωστόσο, το μεγαλύτερο όφελος παρατηρήθηκε στους ασθενείς εκείνους που επιπρόσθετα είχαν και χαμηλά επίπεδα HDL-C (< 40 mg/dL) (σχετική μείωση κινδύνου 27%) [284].

Περαιτέρω αναλύσεις της μελέτης FIELD έδειξαν ότι η θεραπεία με φαινοφιμπράτη έχει ευνοϊκή επίδραση στην εξέλιξη της μικροαγγειακής νόσου, δεδομένου ότι το φάρμακο ελάττωσε σημαντικά την αλβουμινουρία [285], την ανάγκη θεραπείας (φωτοπηξία με laser) για διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια (-30%, $p = 0.0003$), καθώς και τον αριθμό των μη τραυματικών ακρωτηριασμών των κάτω άκρων (-38%, $p = 0.011$) [286, 287]. Επίσης, σε μία μετα-ανάλυση 18 μελετών ($N = 45,058$) η χορήγηση φαινοφιμπράτης συσχετίστηκε με μία κατά 14% ελάττωση της εξέλιξης της μικροαλβουμινουρίας σε αλβουμινουρία ($p = 0.028$) [288].

Σημειώνεται ότι η φαινοφιμπράτη έχει λάβει ένδειξη για την επιβράδυνση της εξέλιξης της διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας στην Αυστραλία και τη Ν. Ζηλανδία.

3.2.7 Συνδυασμοί με άλλα υπολιπιδαιμικά φάρμακα

3.2.7.1 Συνδυασμός με στατίνες

Οι διαφορετικοί μηχανισμοί δράσης καθιστούν δόκιμο το συνδυασμό φιβράτης με στατίνη για τη θεραπεία ασθενών με σοβαρή μκτική δυσλιπιδαιμία ανθεκτική στη μονοθεραπεία. Πράγματι, ο συνδυασμός φαινοφιμπράτης/στατίνης έχει ως αποτέλεσμα την περαιτέρω βελτίωση του λιπιδαιμικού προφίλ, καθώς και τη μεγαλύτερη ελάττωση των επιπέδων της hs-CRP και της ενεργότητας της Lp-PLA₂ σε σύγκριση με τις αντίστοιχες μονοθεραπείες [243, 289-293].

Η μοναδική μέχρι τώρα μελέτη που διερεύνησε την επίδραση του συνδυασμού στατίνης/φιβράτης στα καρδιαγγειακά συμβάματα είναι η μελέτη Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes (ACCORD) [273]. Στη μελέτη ACCORD 5518 ασθενείς με ΣΔ2 και εγκατεστημένη καρδιαγγειακή νόσο ή τουλάχιστον δύο επιπλέον παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου, οι οποίοι είχαν καλό γλυκαιμικό έλεγχο και καλά ρυθμισμένη ΑΠ, καθώς και επιθυμητά επίπεδα LDL-C υπό θεραπεία με σιμβαστατίνη, τυχαιοποιήθηκαν σε φαινοφιμπράτη ή εικονικό φάρμακο για 4.7 χρόνια [273]. Η μελέτη δεν έδειξε διαφορά στα καρδιαγγειακά συμβάματα στο σύνολο του πληθυσμού με την επιπρόσθετη χορήγηση φαινοφιμπράτης. Συγκεκριμένα, η ετήσια εμφάνιση του πρωταρχικού καταληκτικού σημείου (πρώτο μη θανατηφόρο έμφραγμα μυοκαρδίου, μη θανατηφόρο ΑΕΕ ή θάνατος από καρδιαγγειακά αίτια) ήταν 2.2% στην ομάδα της φαινοφιμπράτης και 2.4% στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου [σχετικός κίνδυνος (relative risk; RR) στην ομάδα της φαινοφιμπράτης 0.92, 95% CI 0.79 - 1.08, $p = 0.32$]. Η

ετήσια θνητότητα ήταν 1.5% στην ομάδα της φαινοφιμπράτης και 1.6% στο εικονικό φάρμακο (RR 0.91, 95% CI 0.75 - 1.10, $p = 0.33$) [273].

Ωστόσο, σε μία προσχεδιασμένη υποανάλυση της μελέτης σε ασθενείς με μικτή δυσλιπιδαιμία (TG>204 mg/dL και HDL-C<34 mg/dL), οι οποίοι είχαν αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο κατά 70% σε σύγκριση με τους νορμολιπιδαιμικούς ασθενείς, ο συνδυασμός φαινοφιμπράτης/σιμβαστατίνης οδήγησε σε μία κατά 31% ελάττωση του καρδιαγγειακού κινδύνου σε σύγκριση με τη μονοθεραπεία με σιμβαστατίνη. Ωστόσο, η ελάττωση αυτή δεν ήταν στατιστικά σημαντική [273]. Πρέπει, όμως, να αναφερθεί ότι η συγκεκριμένη μελέτη είχε ορισμένους περιορισμούς: η στρατολόγηση των ασθενών δεν πέτυχε την προκαθορισμένη από το σχεδιασμό της μελέτης ισχύ και ο αριθμός των συμβαμάτων ήταν αρκετά μικρός, ενώ η χορήγηση της σιμβαστατίνης ήταν ανοιχτή (open-label) και όχι διπλά τυφλή.

Πρέπει ωστόσο να υπογραμμισθεί ότι, σε συμφωνία με τα αποτελέσματα της μελέτης FIELD, η χορήγηση φαινοφιμπράτης είχε ως αποτέλεσμα την επιβράδυνση της εξέλιξης της διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας και της νεφροπάθειας, καθώς και τη μείωση της επίπτωσης των μη τραυματικών ακρωτηριασμών των κάτω άκρων που συσχετίζονται με το ΣΔ2. Έτσι, η προσθήκη φαινοφιμπράτης στη θεραπεία με στατίνη είχε ως αποτέλεσμα την ελάττωση του υπολειπόμενου μικροαγγειακού κινδύνου των διαβητικών ασθενών.

3.2.7.2 Συνδυασμός φαινοφιμπράτης-εξετιμίμπης

Σε ασθενείς με μικτή δυσλιπιδαιμία στους οποίους η χορήγηση στατίνης αντενδείκνυται ή προκαλεί ανεπιθύμητες ενέργειες μπορεί να χορηγηθεί συνδυασμός φαινοφιμπράτης με εξετιμίμπη, καθώς το σχήμα αυτό βελτιώνει σημαντικά το λιπιδαιμικό προφίλ [294, 295].

Σε μία μελέτη 625 ασθενείς με μικτή δυσλιπιδαιμία τυχαιοποιήθηκαν σε εικονικό φάρμακο, εξετιμίμπη (10 mg/ημέρα), φαινοφιμπράτη (160 mg/ημέρα) ή το συνδυασμό τους για 12 εβδομάδες [296]. Ο συνδυασμός των δύο φαρμάκων ελάττωσε σε μεγαλύτερο βαθμό τα επίπεδα της LDL-C (-20.4%), της non-HDL-C (-30.4%) και της apoB σε σύγκριση με τις αντίστοιχες μονοθεραπείες ($p < 0.001$). Επιπλέον, η συγκέντρωση των TG ελαττώθηκε κατά 44.0% και η συγκέντρωση της HDL-C αυξήθηκε κατά 19.0% στην ομάδα του συνδυασμού ($p < 0.001$ σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο). Παρόμοιες μεταβολές παρατηρήθηκαν στην ομάδα της φαινοφιμπράτης ($p < 0.001$ σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο) [296]. Μετά τέλος της αρχικής περιόδου των 12 εβδομάδων, οι περισσότεροι από τους ασθενείς (576 από τους 625) εκτιμήθηκαν και μετά από 48

εβδομάδες. Σε αυτή τη δεύτερη φάση της μελέτης οι ασθενείς που πήραν εξετιμίμπη ή εικονικό φάρμακο έλαβαν συνδυασμό φαινοφιμπράτης/εξετιμίμπης ή μονοθεραπεία με φαινοφιμπράτη, αντίστοιχα [297]. Οι μεταβολές της LDL-C (-22.0% έναντι -8.6%), της non-HDL-C (-31.6% έναντι -19.4%), των TG (-46.0% έναντι -41.8%), της HDL-C (+20.9% έναντι +17.8%) και της apoB (-25.2% έναντι -16.2%) ήταν σημαντικά μεγαλύτερες στην ομάδα του συνδυασμού σε σύγκριση με τη μονοθεραπεία με φαινοφιμπράτη ($p < 0.05$ για όλες τις μεταβολές) [297].

Σε μία τυχαιοποιημένη διπλή-τυφλή μελέτη, 43 ασθενείς με υπερχοληστερολαιμία τυχαιοποιήθηκαν σε ατορβαστατίνη (10 mg/ημέρα) ή σε συνδυασμό φαινοφιμπράτης (160 mg/ημέρα) με εξετιμίμπη (10 mg/ημέρα) [298]. Παρατηρήθηκαν παρόμοιες μεταβολές των επιπέδων της LDL-C (-34.6% με το συνδυασμό και -36.7% με την ατορβαστατίνη, $p = 0.46$) και της HDL-C στις δύο ομάδες (+10.0% με το συνδυασμό και +8.9% με την ατορβαστατίνη, $p = 0.778$). Ο συνδυασμός οδήγησε σε μεγαλύτερη ελάττωση των επιπέδων των TG (-25.4% έναντι -14.5% με την ατορβαστατίνη, $p = 0.079$), ενώ δεν παρατηρήθηκε διαφορά στο λόγο TC/HDL-C (συνδυασμός -29.0%, ατορβαστατίνη -28.7%, $p = 0.904$). Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι ο συνδυασμός φαινοφιμπράτης με εξετιμίμπη μπορεί να αποτελέσει εναλλακτική επιλογή για ασθενείς που δεν μπορούν να πάρουν στατίνη.

Σε μία άλλη τυχαιοποιημένη διπλή τυφλή μελέτη 60 ασθενείς με LDL-C ≥ 160 mg/dL, TG = 150-405 mg/dL και τουλάχιστον δύο από τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου τυχαιοποιήθηκαν σε φαινοφιμπράτη (145 mg/ημέρα), εξετιμίμπη (10 mg/ημέρα) ή το συνδυασμό τους για 12 εβδομάδες [299]. Ο συνδυασμός των δύο φαρμάκων οδήγησε σε μεγαλύτερη μείωση της LDL-C, της TC, της non-HDL-C και της apoB σε σύγκριση με τις δύο μονοθεραπείες ($p < 0.001$ για όλες τις συγκρίσεις μεταξύ της ομάδας του συνδυασμού και των ομάδων μονοθεραπείας). Αντίθετα, παρατηρήθηκαν παρόμοιες μεταβολές των επιπέδων των TG και της HDL-C στην ομάδα του συνδυασμού και στην ομάδα της μονοθεραπείας με φαινοφιμπράτη (-38,3% και στις δύο ομάδες και +11,5% και +7.9%, αντίστοιχα), ενώ δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές στις λιπιδαιμικές αυτές παραμέτρους στην ομάδα της εξετιμίμπης [299].

3.2.7.3 Συνδυασμός φαινοφιμπράτης με ρητίνες δέσμευσης των χολικών οξέων

Ο συνδυασμός φαινοφιμπράτης με ρητίνες δέσμευσης των χολικών οξέων έχει ως αποτέλεσμα περαιτέρω μείωση της LDL-C σε σύγκριση με τη μονοθεραπεία. Για

παράδειγμα, σε 129 ασθενείς με μικτή δυσλιπιδαιμία χορηγήθηκε για 8 εβδομάδες φαινοφιμπράτη (160 mg/ημέρα) και στη συνέχεια προστέθηκε είτε κολεσεβελάμη (3.75 g/ημέρα) είτε εικονικό φάρμακο [300]. Μετά από 6 εβδομάδες θεραπείας ο συνδυασμός φαινοφιμπράτης με κολεσεβελάμη μείωσε την LDL-C κατά 10.4%, ενώ η μονοθεραπεία με φαινοφιμπράτη είχε ως αποτέλεσμα αύξηση της LDL-C κατά 2.3% ($p < 0.0001$ μεταξύ των ομάδων). Επιπρόσθετα, ο συνδυασμός είχε ως αποτέλεσμα μεγαλύτερη μείωση της non-HDL-C, της TC και της apoB σε σύγκριση με τη μονοθεραπεία με φαινοφιμπράτη ($p \leq 0.0002$). Τα επίπεδα των TG δεν μεταβλήθηκαν μετά την προσθήκη της κολεσεβελάμης. Το εύρημα αυτό είναι σημαντικό, αφού είναι γνωστό ότι η κολεσεβελάμη αυξάνει τα επίπεδα των TG και αντενδείκνυται σε ασθενείς με υπερτριγλυκεριδαιμία.

3.2.7.4 Συνδυασμός με ω -3 λιπαρά οξέα

Αυτός ο συνδυασμός είναι χρήσιμος σε ασθενείς με σοβαρή υπερτριγλυκεριδαιμία, αφού οδηγεί σε μεγαλύτερη ελάττωση των επιπέδων των TG σε σύγκριση με τις αντίστοιχες μονοθεραπείες. Σε μια τυχαιοποιημένη, διπλή-τυφλή μελέτη, 163 ασθενείς με επίπεδα TG > 500 mg/dL υπό θεραπεία με φαινοφιμπράτη έλαβαν ω -3 λιπαρά οξέα ή εικονικό φάρμακο. Στην ομάδα του συνδυασμού παρατηρήθηκε μεγαλύτερη μείωση των επιπέδων των TG σε σύγκριση με τη μονοθεραπεία με φαινοφιμπράτη (-60.8% έναντι -53.8%, αντίστοιχα, $p = 0.059$) [301].

3.2.8 Συνδυασμός της φαινοφιμπράτης με ορλιστάτη

Η χορήγηση της φαινοφιμπράτης σε συνδυασμό με την ορλιστάτη φαίνεται ότι αποτελεί μια δόκιμη θεραπευτική επιλογή σε παχύσαρκα άτομα με μικτή δυσλιπιδαιμία, όπως διαπιστώθηκε σε μία μελέτη της ερευνητικής μας ομάδας στην οποία αξιολογήθηκε η επίδραση της φαινοφιμπράτης, της ορλιστάτης και του συνδυασμού τους σε υπέρβαρους και παχύσαρκους ασθενείς με μεταβολικό σύνδρομο (N=89) [302].

Μετά την ολοκλήρωση της θεραπείας το 43,5% των ασθενών στην ομάδα της ορλιστάτης, το 47,6% των ασθενών στην ομάδα της φαινοφιμπράτης και το 50% των ασθενών στην ομάδα του συνδυασμού δεν πληρούσαν πλέον τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου [302]. Επιπλέον παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές στο ΣΒ, το BMI, την περίμετρο μέσης, την ΑΠ, τα επίπεδα των λιπιδαιμικών παραμέτρων (TC, LDL-C, non-HDL-C, TG) και του ουρικού οξέος, όπως επίσης και στη γ -GT και το δείκτη HOMA σε όλες τις ομάδες. Ωστόσο, στην ομάδα του συνδυασμού παρατηρήθηκαν

μεγαλύτερες μειώσεις της TC (-26%) και της LDL-C (-30%) σε σύγκριση με τις δύο ομάδες της μονοθεραπείας ($p < 0.01$), καθώς και μεγαλύτερη μείωση των TG (-37%) σε σύγκριση με την ομάδα της ορλιστάτης ($p < 0.05$) [302]. Επιπρόσθετα, σε όλες τις ομάδες μειώθηκαν σημαντικά τα επίπεδα των sdLDL-C, περισσότερο όμως στις ομάδες της φαινοφιμπράτης και του συνδυασμού φαινοφιμπράτης με ορλιστάτη [303]. Τα επίπεδα της γλυκόζης ελαττώθηκαν σημαντικά στις δύο ομάδες ασθενών που έλαβαν ορλιστάτη, ενώ τα επίπεδα της ινσουλίνης και ο δείκτης HOMA ελαττώθηκαν σημαντικά σε όλες τις ομάδες ($p < 0.05$ σε σύγκριση με τα αρχικά επίπεδα) [302]. Τέλος, η ενεργότητα της Lp-PLA₂ ελαττώθηκε σε όλες τις ομάδες, κυρίως όμως στην ομάδα του συνδυασμού ($p < 0.05$ σε σύγκριση με τις ομάδες της μονοθεραπείας) [303]. Φαίνεται, λοιπόν, ότι ο συνδυασμός της φαινοφιμπράτης με την ορλιστάτη μπορεί να βελτιώσει πολλαπλές μεταβολικές παραμέτρους, καθώς και το λιπιδαιμικό προφίλ παχύσαρκων ασθενών με αθηρογόνο δυσλιπιδαιμία.

3.2.9 Φαινοφιμπράτη και καρδιαγγειακός κίνδυνος

Η επίδραση της φαινοφιμπράτης στα καρδιαγγειακά συμβάματα έχει διερευνηθεί σε περιορισμένο αριθμό μελετών. Ήδη περιγράφηκαν οι μελέτες FIELD και ACCORD. Στη μελέτη DAIS, στην οποία 418 ασθενείς τυχαιοποιήθηκαν σε φαινοφιμπράτη (200 mg) ή εικονικό φάρμακο, η χορήγηση φαινοφιμπράτης συσχετίστηκε με ελάττωση της αγγειογραφικής εξέλιξης της ΣΝ [304].

Σε μία μετα-ανάλυση 18 προοπτικών τυχαιοποιημένων μελετών ($N = 45,058$) η χορήγηση φιμπρατών συσχετίστηκε με ελάττωση του σχετικού κινδύνου εμφάνισης μειζόνων καρδιαγγειακών συμβαμάτων κατά 10% (95% CI 0-18; $p = 0.048$) και με μία κατά 13% ελάττωση του σχετικού κινδύνου εμφάνισης στεφανιαίων επεισοδίων ($p < 0.0001$) [288]. Φαίνεται ότι η μείωση αυτή είναι μεγαλύτερη σε άτομα με υψηλότερα επίπεδα TG πριν την έναρξη της αγωγής, καθώς και στα άτομα με τις μεγαλύτερες μειώσεις των TG κατά τη διάρκεια της αγωγής. Αντίθετα, η θεραπεία με φιμπράτες δεν ελάττωσε τον κίνδυνο εμφάνισης ΑΕΕ, την ολική, την καρδιαγγειακή και τη μη καρδιαγγειακή θνητότητα καθώς και τους αιφνίδιους θανάτους [288].

Μία άλλη μετα-ανάλυση έδειξε ότι οι φιμπράτες είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικά φάρμακα για τη βελτίωση του λιπιδαιμικού προφίλ και την πρόληψη καρδιαγγειακών συμβαμάτων σε ασθενείς με ήπια ως μέτρια ΧΝΝ, συμπεριλαμβανομένων των ασθενών με ΣΔ [305].

3.2.10 Ανεπιθύμητες ενέργειες της φαινοφιμπράτης [306]

Η φαινοφιμπράτη είναι ένα αρκετά ασφαλές φάρμακο, το οποίο σε γενικές γραμμές γίνεται καλά ανεκτό από τους ασθενείς [306]. Οι ανεπιθύμητες ενέργειες της φαινοφιμπράτης είναι οι παρακάτω:

3.2.10.1 Μυοπάθεια

Μία από τις συχνότερες ανεπιθύμητες ενέργειες των φιμπρατών είναι η μυοπάθεια, η οποία μπορεί να οδηγήσει σε ραβδομύλυση. Η εμφάνιση ραβδομύλυσης συσχετίζεται κυρίως με τη χορήγηση της γεμφιπροζίλης, ιδιαίτερα όταν αυτή συγχορηγείται με στατίνες. Συνήθως τα συμπτώματα εμφανίζονται με την έναρξη της θεραπείας.

3.2.10.2 Ηπατοτοξικότητα

Συχνά η χορήγηση των φιμπρατών συνοδεύεται από αύξηση των τρανσαμινασών, η οποία κατά κανόνα δεν αντικατοπτρίζει υποκείμενη ηπατική βλάβη. Ωστόσο, έχουν αναφερθεί ορισμένα μεμονωμένα περιστατικά ηπατοπάθειας, όπως κίρρωση και διάφορες μορφές ηπατίτιδας μετά από τη χορήγηση φαινοφιμπράτης.

3.2.10.3 Γαστρεντερικές διαταραχές

Οι συχνότερες ανεπιθύμητες ενέργειες των φιμπρατών προέρχονται από το γαστρεντερικό σύστημα και περιλαμβάνουν κυρίως δυσπεπτικά ενοχλήματα, διάρροια και κοιλιακό άλγος. Έχουν αναφερθεί επίσης οισοφαγίτιδα, πεπτικό έλκος, γαστρίτιδα από ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού, δυσκοιλιότητα και αιμορραγία του πεπτικού σωλήνα.

Υπάρχει μεγάλη συζήτηση στη βιβλιογραφία για το ενδεχόμενο αυξημένης επίπτωσης χολολιθίασης εξαιτίας της χορήγησης φιμπρατών. Πράγματι, τόσο σε επιδημιολογικές, όσο και σε τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες η θεραπεία με φιμπράτες έχει συσχετισθεί με αυξημένη συχνότητα χολολιθίασης ή/και χολοκυστεκτομής. Ο πιθανότερος υποκείμενος μηχανισμός για αυτή την ανεπιθύμητη ενέργεια είναι ο αυξημένος κορεσμός της χολής με χοληστερόλη. Αξίζει να σημειωθεί ότι συχνά οι χολόλιθοι εξαφανίζονται μετά τη διακοπή της φιμπράτης. Επιπρόσθετα, έχουν αναφερθεί περιπτώσεις οξείας παγκρεατίτιδας μετά τη χορήγηση αυτών των φαρμάκων. Η παγκρεατίτιδα σε αυτές τις περιπτώσεις πιθανά συσχετίζεται με την υποκείμενη χολολιθίαση ή με την υπερτριγλυκεριδαιμία των ασθενών που παίρνουν φιμπράτες.

3.2.10.4 Δερματικές ανεπιθύμητες επιδράσεις

Έχουν περιγραφεί διάφορες ανεπιθύμητες ενέργειες από το δέρμα και τον υποδόριο ιστό σε ασθενείς που λάμβαναν φαινοφιμπράτη, όπως π.χ. φωτοευαισθησία, εξανθήματα, δερματίτιδες, αλωπεκία και κνησμός. Πιθανά, οι ανεπιθύμητες ενέργειες από το δέρμα να αποτελούν αλλεργικές ή ιδιοσυγκρασιακές αντιδράσεις.

3.2.10.5 Περιφερική νευροπάθεια

Η περιφερική νευροπάθεια θεωρείται παρενέργεια όλων των φιμπρατών και μπορεί να εκδηλωθεί ως κινητική, αισθητική ή αισθητικοκινητική νευροπάθεια. Ωστόσο, δεν έχει προταθεί κάποιος πιθανός υποκείμενος μηχανισμός για τη συγκεκριμένη ανεπιθύμητη ενέργεια.

3.2.10.6 Στυτική δυσλειτουργία

Η στυτική δυσλειτουργία έχει αναφερθεί ως παρενέργεια της φαινοφιμπράτης, όπως και των περισσότερων φιμπρατών. Πρέπει όμως να λάβουμε υπόψη το γεγονός ότι οι ασθενείς που λαμβάνουν φιμπράτες συχνά έχουν ποικίλους αγγειακούς παράγοντες κινδύνου ή ακόμα και εγκατεστημένη καρδιαγγειακή νόσο, καταστάσεις που προδιαθέτουν σε στυτική δυσλειτουργία. Άλλωστε, η ίδια η υπερχοληστερολαιμία έχει συσχετισθεί με αυξημένο κίνδυνο δυσλειτουργίας της στύσης.

3.2.10.7 Γυναικομαστία

Έχει αναφερθεί ένα μόνο περιστατικό γυναικομαστίας σε ασθενή που λάμβανε φαινοφιμπράτη, η οποία υποχώρησε μετά τη διακοπή της θεραπείας.

3.2.10.8 Νεφροτοξικότητα

Μια σπάνια, αλλά και η πιο σημαντική παρενέργεια των φιμπρατών είναι η ραβδομυόλυση, η οποία μπορεί να προκαλέσει νεφρική βλάβη. Παρατηρείται κυρίως όταν συνυπάρχουν και άλλοι παράγοντες κινδύνου για μυοπάθεια ή ραβδομυόλυση (π.χ. μεγάλη ηλικία, υποκείμενη νεφροπάθεια, υποθυρεοειδισμός) ή όταν χορηγούνται ταυτόχρονα φάρμακα που μεταβολίζονται με τον ίδιο μηχανισμό με τις φιμπράτες, όπως οι στατίνες. Φαίνεται όμως ότι αυτός ο κίνδυνος είναι πολύ μικρότερος με τη φαινοφιμπράτη και πλέον υπάρχουν έτοιμοι συνδυασμοί στατίνης/φαινοφιμπράτης. Η αύξηση της κρεατινίνης και η

πιθανότητα μόνιμης βλάβης στη νεφρική λειτουργία από τη χορήγηση φαινοφιμπράτης έχουν ήδη περιγραφεί.

3.2.10.9 Αιμοποιητικό σύστημα

Μια παρενέργεια των φιμπρατών, η οποία σε ελάχιστες περιπτώσεις έχει παρατηρηθεί και με τη φαινοφιμπράτη, είναι η λευκοπενία, η οποία όμως δεν φαίνεται να έχει κλινική σημασία. Έχει επίσης αναφερθεί αιμορραγική διάθεση, για αυτό και είναι δόκιμο να προσαρμόζεται ανάλογα η δόση της αντιπηκτικής αγωγής όταν χορηγούνται κουμαρινικά αντιπηκτικά σε συνδυασμό με φιμπράτες και να προσδιορίζεται συχνά ο χρόνος προθρομβίνης.

3.2.10.10 ΚΝΣ

Η συχνότερη ανεπιθύμητη ενέργεια από το ΚΝΣ είναι η κεφαλαλγία, η οποία όμως σπάνια οδηγεί σε διακοπή της θεραπείας. Άλλες παρενέργειες από το κεντρικό νευρικό σύστημα είναι η κόπωση, η ζάλη, η αδυναμία, ο ίλιγγος και οι διαταραχές του ύπνου.

3.2.10.11 Θρομβοεμβολική νόσος

Στη μελέτη FIELD η φαινοφιμπράτη συσχετίστηκε με αυξημένο κίνδυνο για πνευμονική εμβολή (0.7% έναντι 1.1%, $p = 0.0003$) και εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση (67 έναντι 48 περιστατικών, $p = 0.074$) σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο. Όπως ήδη αναφέρθηκε, η φαινοφιμπράτη ενδεχόμενα προδιαθέτει άτομα με υψηλά αρχικά επίπεδα ομοκυστεΐνης σε εν τω βάθει φλεβοθρόμβωση, ενώ η καθαυτή αύξηση της συγκέντρωσης της ομοκυστεΐνης από τη φαινοφιμπράτη δεν συσχετίστηκε με αύξηση αυτού του κινδύνου [283]. Δεν έχει προταθεί άλλος πιθανός υποκείμενος μηχανισμός για το συγκεκριμένο εύρημα.

3.3 ΕΖΕΤΙΜΙΜΠΗ

3.3.1 Γενικά-Μηχανισμός δράσης

Η εξετιμίμπη είναι το πρώτο φάρμακο μιας κατηγορίας υπολιπιδαιμικών φαρμάκων που ονομάζονται «αναστολείς απορρόφησης της χοληστερόλης» [307]. Η εξετιμίμπη ελαττώνει την απορρόφηση της χοληστερόλης (τόσο εκείνης που προσλαμβάνεται με τη διαίτα, όσο και της χοληστερόλης που προέρχεται από τη χολή), καθώς και των φυτικών στερολών και στερολών από τον εντερικό αυλό κατά περίπου 50% [308, 309]. Συγκεκριμένα, η εξετιμίμπη αναστέλλει τη δραστηριότητα της διαμεμβρανικής πρωτεΐνης

Niemann-Pick C1-like 1 (NPC1L1) [310-312], η οποία βρίσκεται στην ψυκτροειδή παρυφή των εντερικών κυττάρων και διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην απορρόφηση της χοληστερόλης (και των φυτικών στερολών και στερολών) από το γαστρεντερικό σωλήνα [310]. Επιπρόσθετα, η εξετιμίμπη πιθανά προσδένεται στο σύμπλεγμα αννεξίνης 2-καβεολίνης 1 (annexin 2-caveolin 1 complex), ένα ετεροδιμερές το οποίο διευκολύνει την είσοδο της χοληστερόλης στα εντερικά κύτταρα [313]. Ωστόσο, η άποψη αυτή δεν υποστηρίζεται από όλους τους ερευνητές. Παράλληλα, η εξετιμίμπη δρα στην αμινοπεπτιδάση N (CD13), μια μεμβρανική πρωτεΐνη που επίσης εντοπίζεται στην ψυκτροειδή παρυφή των εντερικών κυττάρων [314].

Η ελάττωση της απορρόφησης της χοληστερόλης από τα επιθηλιακά κύτταρα του λεπτού εντέρου και της ενσωμάτωσής της στα χυλομικρά έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της προσφοράς χοληστερόλης στα ηπατοκύτταρα και κατ' επέκταση της ενδοκυττάριας συγκέντρωσης χοληστερόλης. Η μείωση αυτή συνεπάγεται την αύξηση του αριθμού και της δραστηριότητας των LDL υποδοχέων στην επιφάνεια των ηπατοκυττάρων και τελικά την ελάττωση των επιπέδων της LDL-C.

3.3.2 Φαρμακοκινητική

Μετά από την από του στόματος χορήγηση, η εξετιμίμπη απορροφάται και μεταβολίζεται με γλυκουρονιδίωση στο λεπτό έντερο και το ήπαρ στον ενεργό μεταβολίτη της, το γλυκουρονίδιο της εξετιμίμπης. Ακολούθως, εκκρίνεται διαμέσου της χολής στον εντερικό αυλό όπου ασκεί εκ νέου τη δράση της (εντεροηπατική κυκλοφορία) [315]. Η εντεροηπατική κυκλοφορία μπορεί να ερμηνεύσει και το μεγάλο χρόνο ημίσειας ζωής του φαρμάκου, που αγγίζει τις 22 ώρες [309]. Η εξετιμίμπη απεκκρίνεται κυρίως διαμέσου του ήπατος και μόνο ένα μικρό ποσοστό αυτής (11%) απεκκρίνεται από τους νεφρούς. Αξίζει να σημειωθεί ότι η εξετιμίμπη δεν επηρεάζει την απορρόφηση των TG, των λιποδιαλυτών βιταμινών ή των συγχορηγούμενων φαρμάκων [316]. Η ελάχιστη συστηματική απορρόφηση της εξετιμίμπης, το γεγονός ότι δεν παρεμβαίνει στην απορρόφηση άλλων φαρμάκων, καθώς και το γεγονός ότι το φάρμακο δεν μεταβολίζεται διαμέσου του κυτοχρώματος P4503A4, την καθιστά ένα ιδιαίτερα ασφαλές φάρμακο, χωρίς σημαντικές αλληλεπιδράσεις με άλλα φάρμακα [309]. Έτσι, μπορεί να συγχορηγηθεί άφοβα με όλες τις διαθέσιμες στατίνες, τη φαινοφιμπράτη και την κολεσεβελάμη. Ωστόσο, η συγχορήγησή της με κυκλοσπορίνη οδηγεί σε σημαντική αύξηση της συγκέντρωσής της στο πλάσμα.

3.3.3 Επίδραση στο λιπιδαιμικό προφίλ

Η εξετιμίμπη ως μονοθεραπεία επιτυγχάνει μείωση της LDL-C μόνο κατά 15-22%, αφού η ελάττωση της απορρόφησης της χοληστερόλης έχει ως αποτέλεσμα την αντιρροπιστική αύξηση της σύνθεσής της [307]. Εντούτοις, όταν η εξετιμίμπη συνδυάζεται με στατίνες η συνολική μεταβολή της LDL-C είναι μεγαλύτερη από το άθροισμα των μεταβολών των αντίστοιχων μονοθεραπειών. Συγκεκριμένα, η προσθήκη εξετιμίμπης σε ασθενείς που λαμβάνουν στατίνη οδηγεί σε μία μέση επιπρόσθετη ελάττωση της LDL-C κατά 24% ανεξάρτητα από τη στατίνη που χορηγείται ή τη δόση της [307, 317-322]. Αν λάβουμε υπόψη ότι ο διπλασιασμός της δόσης της στατίνης αποφέρει περαιτέρω ελάττωση της LDL-C μόνο κατά 6%, αυξάνοντας παράλληλα το ποσοστό των ανεπιθύμητων ενεργειών, διαπιστώνουμε την ιδιαίτερη σημασία του συγκεκριμένου φαρμάκου στην εντατικοποίηση της υπολιπιδαιμικής αγωγής.

Επιπρόσθετα, η εξετιμίμπη προκαλεί μικρές αυξήσεις της HDL-C και της apoA1 (3-4%), ενώ παράλληλα μειώνει τη μεταγευματική λιπαιμία και τα επίπεδα των TG νηστείας μέχρι και κατά 10%, με τις μεγαλύτερες μεταβολές να παρατηρούνται σε άτομα με υψηλά αρχικά επίπεδα TG [323, 324]. Επίσης, η χορήγηση εξετιμίμπης έχει συσχετισθεί με ελάττωση των επιπέδων της TC κατά ~13%, της apoB κατά ~15%, της non-HDL-C κατά ~20%, καθώς και των λόγων TC/HDL-C, LDL-C/HDL-C και apoB/apoA1 [324, 325]. Πρέπει να αναφερθεί ότι η επίδραση του συγκεκριμένου φαρμάκου στη συγκέντρωση της Lp(a) έχει διερευνηθεί σε λίγες μελέτες και δεν έχει αποσαφηνισθεί [323, 326].

Η εξετιμίμπη οδηγεί σε ελάττωση της χοληστερόλης όλων των υποκλασμάτων των LDL σωματιδίων, ιδιαίτερα όμως των αθηρογόνων sdLDL [325, 327]. Αυτό το εύρημα επιβεβαιώνεται και από την αύξηση της μέσης διαμέτρου των LDL σωματιδίων που έχει παρατηρηθεί με τη χορήγηση εξετιμίμπης [325]. Η μείωση της χοληστερόλης των sdLDL σωματιδίων είναι μεγαλύτερη σε ασθενείς με υψηλά επίπεδα TG πριν την έναρξη της αγωγής [325]. Αξίζει να σημειωθεί ότι σε μία μελέτη της ερευνητικής μας ομάδας η χορήγηση εξετιμίμπης/σιμβαστατίνης 10/10 mg και η χορήγηση σιμβαστατίνης 40 mg οδήγησαν σε παρόμοια μείωση της συγκέντρωσης της χοληστερόλης των sdLDL σωματιδίων (περίπου κατά 40%) [328]. Αντίθετα, σε μια άλλη μελέτη, σε υγιή όμως άτομα, η εξετιμίμπη οδήγησε σε αύξηση των επιπέδων των sdLDL σωματιδίων, υποβαθμίζοντας τη θετική επίδραση της σιμβαστατίνης στη συγκεκριμένη παράμετρο [329].

Σύμφωνα με τις τρέχουσες κατευθυντήριες οδηγίες για την αντιμετώπιση των δυσλιπιδαιμιών, η χορήγηση εξετιμίμπης σε συνδυασμό με στατίνη συνιστάται σε άτομα στα οποία η χορήγηση μονοθεραπείας με στατίνη δεν οδηγεί στην επίτευξη των στόχων της υπολιπιδαιμικής αγωγής. Επιπλέον, η εξετιμίμπη μπορεί να αποτελέσει μια εναλλακτική θεραπευτική επιλογή σε ασθενείς που δεν μπορούν να ανεχθούν τη θεραπεία με στατίνες. Σε αυτές τις περιπτώσεις, προκειμένου να επιτευχθεί μεγαλύτερο υπολιπιδαιμικό αποτέλεσμα, η εξετιμίμπη μπορεί να συνδυασθεί με κολεσεβελάμη, ArmoIipid (ένα τροφοφάρμακο) ή φαινοφιμπράτη (σε ασθενείς με μικτή δυσλιπιδαιμία). Στους ασθενείς που δεν μπορούν να ανεχθούν τις υψηλές δόσεις στατινών μπορεί να χορηγηθεί συνδυασμός χαμηλής δόσης στατίνης ή στατίνης κάθε δεύτερη μέρα με εξετιμίμπη. Πρέπει να τονισθεί ότι η συγχορήγηση εξετιμίμπης με φυτικές στερόλες δεν συνιστάται, αφού δεν οδηγεί σε επιπρόσθετη μείωση της LDL-C.

3.3.4 Επιδράσεις σε άλλες παραμέτρους-Πλειοτροπικές δράσεις

Όπως οι στατίνες, έτσι και η εξετιμίμπη φαίνεται ότι διαθέτει πλειοτροπικές δράσεις. Συγκεκριμένα, το φάρμακο έχει αντιφλεγμονώδεις δράσεις [330], δεδομένου ότι ελαττώνει τα επίπεδα της hs-CRP [324], τη δραστηριότητα των Toll-υποδοχέων [331], καθώς και τη μάζα και την ενεργότητα της Lp-PLA₂ [266], ενώ παράλληλα αυξάνει την PON1 [266]. Επιπρόσθετα, έχει αντιοξειδωτικές και αντιθρομβωτικές δράσεις, αφού ελαττώνει τα επίπεδα της οξειδωμένης LDL-C [332] και μειώνει τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων [330] και τα επίπεδα του ινωδογόνου και του PAI-1 [333, 334] αντίστοιχα.

Η χορήγηση της εξετιμίμπης έχει συσχετισθεί με ελάττωση της αλβουμινουρίας σε ασθενείς με ΣΔ [335] και της πρωτεϊνουρίας σε ασθενείς με ΧΝΝ [336, 337]. Πιθανά ο νεφροπροστατευτικός αυτός ρόλος οφείλεται στις αντιφλεγμονώδεις και αντιθρομβωτικές δράσεις του φαρμάκου [338]. Μάλιστα, στους διαβητικούς ασθενείς η θεραπεία με εξετιμίμπη οδήγησε σε ελάττωση της αρτηριακής σκληρίας [339].

Υπάρχουν αρκετές ενδείξεις ότι η εξετιμίμπη βελτιώνει την ηπατική στεάτωση, την ίνωση και τη φλεγμονή σε άτομα με μη αλκοολική λιπώδη νόσο του ήπατος [340-344], ένα εύρημα το οποίο, όμως, δεν έχει επιβεβαιωθεί σε όλες τις μελέτες [345]. Επίσης δεν υπάρχει ομοφωνία όσον αφορά την επίδραση της εξετιμίμπης στην αγγειοκινητική λειτουργία του ενδοθηλίου, με κάποιες μελέτες να δείχνουν ευνοϊκή επίδραση [346] και άλλες μελέτες ουδέτερη [347, 348]. Τέλος, αμφιλεγόμενος είναι ο ρόλος της εξετιμίμπης στην ομοιοστασία των υδατανθράκων, με ορισμένες μελέτες να δείχνουν βελτίωση της

συγκεκριμένης παραμέτρου [349, 350] και άλλες ουδέτερη ή αρνητική δράση του φαρμάκου [342, 351, 352].

3.3.5 Μεγάλες τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες

Μία μελέτη που συζητήθηκε αρκετά είναι η Ezetimibe and Simvastatin in Hypercholesterolemia Enhances Atherosclerosis Regression (ENHANCE), στην οποία η περαιτέρω ελάττωση της LDL-C (κατά 16.5%) και της CRP (κατά 26%) με το συνδυασμό σιμβαστατίνης (80 mg)/εζετιμίμπης (10 mg) σε σύγκριση με τη μονοθεραπεία με σιμβαστατίνη (80 mg) δεν προκάλεσε διαφορετική μεταβολή του cIMT σε ασθενείς με οικογενή υπερχοληστερολαιμία (N=720) [353]. Ωστόσο, πρέπει να σημειωθεί ότι υπήρχαν αρκετά μεθοδολογικά προβλήματα στο σχεδιασμό της συγκεκριμένης μελέτης που δεν επιτρέπουν την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων. Για παράδειγμα, οι περισσότεροι ασθενείς της μελέτης είχαν λάβει στο παρελθόν θεραπεία με στατίνη με αποτέλεσμα να μην έχουν σημαντικού βαθμού αθηρωμάτωση των καρωτίδων, ώστε να υπάρξει σημαντική διαφορά μεταξύ των 2 ομάδων στο τελικό καταληκτικό σημείο σε βραχύ χρονικό διάστημα (2 χρόνια). Πράγματι, η μέση τιμή του cIMT των ασθενών ήταν 0,695 mm, ενώ σε φυσιολογικά άτομα της ίδιας ηλικίας η αντίστοιχη τιμή είναι 0,640 mm.

Από την άλλη, υπάρχουν ενδείξεις από τη μελέτη Stop Atherosclerosis in Native Diabetics Study (SANDS) (η οποία δημοσιεύθηκε το ίδιο έτος) ότι η επιθετική υπολιπιδαιμική αγωγή σε ασθενείς με ΣΔ χωρίς γνωστή καρδιαγγειακή νόσο μπορεί να οδηγήσει σε μικρή υποστρόφη των αθηρωματικών βλαβών των καρωτίδων [354]. Σε αυτή τη μελέτη (N = 499), η επιθετική υπολιπιδαιμική αγωγή με τη χορήγηση συνδυασμού στατίνης με εζετιμίμπη είχε ως αποτέλεσμα μια μεγαλύτερου βαθμού, όχι όμως στατιστικά σημαντική, υποστρόφη των αθηρωματικών βλαβών των καρωτίδων σε σύγκριση με τη μονοθεραπεία με στατίνη [354]. Σε αντίθεση με τη μελέτη ENHANCE, οι ασθενείς στη SANDS είχαν σημαντική αθηρωμάτωση (αρχικό cIMT 0,81 mm) [354].

Ένα χρόνο αργότερα, στη μελέτη VYtorin on Carotid intima-media thickness and overall arterial rigidity (VYCTOR), στην οποία ασθενείς με ΣΝ (N = 90) τυχαιοποιήθηκαν σε πραβαστατίνη (40 mg), σιμβαστατίνη (40 mg) ή σε συνδυασμό εζετιμίμπης/σιμβαστατίνης (10/20 mg), παρατηρήθηκε παρόμοια ελάττωση του cIMT και στις 3 ομάδες [355].

Αντίθετα, η μελέτη Arterial Biology for the Investigation of the Treatment Effects of Reducing Cholesterol 6-HDL and LDL Treatment Strategies in Atherosclerosis (ARBITER 6-HALTS) [356] δεν επιβεβαίωσε τα ευρήματα των δύο προηγούμενων

μελετών. Η μελέτη αυτή συνέκρινε το συνδυασμό στατίνης (κυρίως ατορβαστατίνης ή σιμβαστατίνης) με εξετιμίμπη (10 mg) ή με παρατεταμένης αποδέσμευσης νικοτινικό οξύ (2000 mg) σε ασθενείς με ΣΝ ή ισοδύναμο ΣΝ (N = 315). Οι ασθενείς της μελέτης λάμβαναν ήδη αγωγή με στατίνη και είχαν επίπεδα LDL-C <100 mg/dL και HDL-C <50 mg/dL οι άνδρες και <55 mg/dL οι γυναίκες. Ο συνδυασμός εξετιμίμπης/στατίνης δεν επηρέασε το cIMT, ενώ αντίθετα στην ομάδα του νικοτινικού οξέος παρατηρήθηκε ελάττωση του cIMT [356]. Συμπερασματικά, η επίδραση της εξετιμίμπης στο cIMT ήταν διαφορετική στις μελέτες που εκτίμησαν αυτή την παράμετρο.

Μία μελέτη που δημοσιεύθηκε αμέσως μετά την ENHANCE, η οποία επίσης συζητήθηκε αρκετά, είναι η μελέτη Simvastatin and Ezetimibe in Aortic Stenosis (SEAS). Στη μελέτη αυτή ασθενείς με αορτική στένωση έλαβαν θεραπεία με εξετιμίμπη (10 mg) και σιμβαστατίνη (40 mg) ή εικονικό φάρμακο. Αν και η χορήγηση της υπολιπιδαιμικής αγωγής δεν ελάττωσε συνολικά τα συμβάματα που σχετίζονται με τη στένωση της αορτής, παρατηρήθηκε μείωση των αθηροσκληρωτικών συμβαμάτων κατά 22% και κυρίως των επεμβάσεων στεφανιαίας παράκαμψης (-32%; p = 0.02) [357]. Εντούτοις, δεν είναι σαφές κατά πόσο η ευνοϊκή αυτή επίδραση οφείλεται στην εξετιμίμπη ή αν ήταν αποτέλεσμα μόνο της σιμβαστατίνης. Ένας ακόμα λόγος για τον οποίο απασχόλησε αυτή τη μελέτη τη βιβλιογραφία ήταν ότι παρατηρήθηκαν περισσότερες νεοπλασίες στην ομάδα των ασθενών που λάμβανε υπολιπιδαιμική αγωγή [357]. Ωστόσο, η μετέπειτα παρακολούθηση του 73% των ασθενών της μελέτης για 21 μήνες διέψευσε αυτό το εύρημα [358], ενώ μια μετα-ανάλυση κλινικών μελετών στις οποίες χορηγήθηκε εξετιμίμπη έδειξε ότι η χορήγηση του φαρμάκου δεν αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης νεοπλασιών [359].

Η επίδραση του συνδυασμού εξετιμίμπης/σιμβαστατίνης στην καρδιαγγειακή νοσηρότητα και θνητότητα διερευνήθηκε και σε ασθενείς με ΧΝΝ στη Study of Heart and Renal Protection (SHARP) [360]. Σε αυτή τη μελέτη 9270 ασθενείς με ΧΝΝ (κρεατινίνη ορού >1.7 mg/dL στους άντρες και >1.5 mg/dL στις γυναίκες) χωρίς γνωστό ιστορικό εμφράγματος του μυοκαρδίου ή στεφανιαίας επαναγγείωσης τυχαιοποιήθηκαν σε αγωγή με σιμβαστατίνη (20 mg) και εξετιμίμπη (10 mg) ή σε εικονικό φάρμακο. Το πρωτογενές καταληκτικό σημείο ήταν η εμφάνιση του πρώτου μείζονος αθηροσκληρωτικού επεισοδίου (μη θανατηφόρο έμφραγμα του μυοκαρδίου, στεφανιαίος θάνατος, μη αιμορραγικό εγκεφαλικό επεισόδιο ή οποιαδήποτε επέμβαση αρτηριακής επαναγγείωσης). Λιγότερα άτομα στην ομάδα της ενεργού θεραπείας εμφάνισαν μη θανατηφόρο έμφραγμα του μυοκαρδίου ή κατέληξαν από ΣΝ (RR 0.92, 95% CI 0.76-1.11; p = 0.37), ενώ

παρατηρήθηκε σημαντική ελάττωση στα μη αιμορραγικά εγκεφαλικά επεισόδια (RR 0.75, 95% CI 0.60-0.94; $p = 0.01$) και στις επεμβάσεις αρτηριακής επαναγγείωσης (RR 0.79, 95% CI 0.68-0.93; $p = 0.0036$). Οι ανεπιθύμητες ενέργειες ήταν παρόμοιες στις δύο ομάδες. Όπως και στη μελέτη SEAS, δεν είναι σαφές κατά πόσο συνέβαλε η εξετιμίμπη στα θετικά αποτελέσματα της μελέτης, δεδομένου ότι συγχορηγήθηκε με σιμβαστατίνη.

Η μεγαλύτερη και πιο πρόσφατη μελέτη η οποία διερεύνησε την επίπτωση της εξετιμίμπης στα καρδιαγγειακά συμβάματα είναι η μελέτη IMProved Reduction of Outcomes: Vytorin Efficacy International Trial (IMPROVE-IT), μια διπλή τυφλή τυχαιοποιημένη μελέτη σε 18.144 ασθενείς που νοσηλεύτηκαν για οξύ στεφανιαίο επεισόδιο τις τελευταίες 10 ημέρες πριν την ένταξή τους στη μελέτη οι οποίοι είχαν επίπεδα LDL-C 50-100 mg/dL ή 50-125 mg/dL εφόσον λάμβαναν ή δεν λάμβαναν υπολιπιδαιμική αγωγή, αντίστοιχα [361]. Οι ασθενείς τυχαιοποιήθηκαν σε συνδυασμό σιμβαστατίνης (40 mg) και εξετιμίμπης (10 mg) ή σε μονοθεραπεία με σιμβαστατίνη (40 mg). Το τελικό καταληκτικό σημείο ήταν ο συνδυασμός καρδιαγγειακού θανάτου, μη θανατηφόρου εμφράγματος του μυοκαρδίου, ασταθούς στηθάγχης που έχρηζε νοσηλείας, στεφανιαίας επαναγγείωσης (≥ 30 ημέρες μετά την τυχαιοποίηση) και μη θανατηφόρου ΑΕΕ. Ο μέσος χρόνος παρακολούθησης ήταν 6 χρόνια [361]. Η μέση συγκέντρωση της LDL-C κατά τη διάρκεια της μελέτης ήταν 53.7 mg/dL στην ομάδα του συνδυασμού και 69.5 mg/dL στην ομάδα της μονοθεραπείας ($p < 0.001$). Η περαιτέρω ελάττωση της LDL-C με την εξετιμίμπη οδήγησε σε μία κατά 7% μείωση των καρδιαγγειακών συμβαμάτων (95% CI 0.89- 0.99; $p = 0.016$) [361]. Η πολυαναμενόμενη αυτή μελέτη επιβεβαίωσε την ανάγκη της επιθετικής μείωσης της LDL-C σε άτομα πολύ υψηλού κινδύνου, καθώς και την αποτελεσματικότητα και ασφάλεια της εξετιμίμπης.

3.3.6 Συνδυασμοί με άλλα υπολιπιδαιμικά φάρμακα

3.3.6.1 Συνδυασμός με στατίνες

Όπως ήδη αναφέρθηκε, ο συνδυασμός εξετιμίμπης/στατίνης οδηγεί σε μεγαλύτερη ελάττωση της LDL-C (και γενικά βελτίωση του λιπιδαιμικού προφίλ) σε σύγκριση με το διπλασιασμό ή τον τετραπλασιασμό της δόσης της στατίνης, ανεξάρτητα από τη στατίνη που χορηγείται, χωρίς να αυξάνει το ποσοστό των ανεπιθύμητων ενεργειών. Ενδεικτικά αναφέρονται ορισμένες μελέτες που υποστηρίζουν τα παραπάνω ευρήματα.

Στη μελέτη VYVA (the Vytorin Versus Atorvastatin Study) ο σταθερός συνδυασμός της εξετιμίμπης με σιμβαστατίνη οδήγησε σε μεγαλύτερη ελάττωση της LDL-C σε σύγκριση

με τη χορήγηση μονοθεραπείας με ατορβαστατίνη στις αντίστοιχες δόσεις (από 10-80 mg) (-43,7% και -48,3% με ατορβαστατίνη 20 mg και 40 mg, αντίστοιχα έναντι -50,6% και -57,4% με εξετιμίμπη 10 mg/σιμβαστατίνη 20 mg και εξετιμίμπη/σιμβαστατίνη 40 mg, αντίστοιχα) [362]. Επιπρόσθετα, η χορήγηση εξετιμίμπης 10 mg/σιμβαστατίνης 40 mg και εξετιμίμπης 10 mg/σιμβαστατίνης 80 mg οδήγησε σε μεγαλύτερη αύξηση της HDL-C σε σύγκριση με τη χορήγηση των αντίστοιχων δόσεων ατορβαστατίνης (+9,0% και +7,6% έναντι +3,8% και +1,4%, αντίστοιχα; $p < 0.001$ για τη σύγκριση μεταξύ των αντίστοιχων ομάδων). Αξίζει να σημειωθεί ότι ο θεραπευτικός στόχος σε ασθενείς πολύ υψηλού κινδύνου ($LDL-C < 70$ mg/dL) επιτεύχθηκε σε διπλάσιο σχεδόν ποσοστό ασθενών με τη συνδυασμένη αγωγή εξετιμίμπης/σιμβαστατίνης σε σύγκριση με τη μονοθεραπεία με ατορβαστατίνη (43,5% έναντι 20,5%) [362].

Η ανωτερότητα αυτού του συνδυασμού σε σύγκριση με τη μονοθεραπεία με ατορβαστατίνη αποδείχθηκε επίσης και σε ασθενείς με ΣΔ2. Συγκεκριμένα, η χορήγηση εξετιμίμπης 10 mg/σιμβαστατίνης 20 mg οδήγησε σε μια κατά 9% μεγαλύτερη ελάττωση της LDL-C σε σύγκριση με τη χορήγηση ατορβαστατίνης 20 mg (-53,6% και -44,6%, αντίστοιχα). Τα αντίστοιχα ποσοστά όταν χορηγήθηκαν 40 mg στατίνης ήταν -57,6% και -50,9%. Η μεγάλη ελάττωση των επιπέδων της LDL-C που επιτεύχθηκε με αυτό το συνδυασμό είχε επίσης ως αποτέλεσμα την επίτευξη του θεραπευτικού στόχου ($LDL-C < 70$ mg/dL) σε μεγαλύτερο ποσοστό ασθενών πολύ υψηλού κινδύνου.

Μια άλλη μελέτη (INFORCE) σε ασθενείς που έπαιρναν στατίνη και διακομίσθηκαν στο νοσοκομείο με οξύ στεφανιαίο σύμβαμα έδειξε ότι ο συνδυασμός εξετιμίμπης 10 mg/σιμβαστατίνης 40 mg ήταν πιο αποτελεσματικός όσον αφορά την ελάττωση της LDL-C σε σύγκριση με το διπλασιασμό της δόσης της στατίνης [363]. Συγκεκριμένα, με τη χορήγηση του έτοιμου συνδυασμού η LDL-C ελαττώθηκε κατά 19 mg/dL περισσότερο σε σύγκριση με το διπλασιασμό της δόσης της στατίνης, ένα εύρημα που είχε ως αποτέλεσμα την επίτευξη του θεραπευτικού στόχου σε μεγαλύτερο ποσοστό ασθενών στην ομάδα εξετιμίμπης/σιμβαστατίνης [363].

Συμπερασματικά, η συνδυασμένη θεραπεία με στατίνη και εξετιμίμπη οδηγεί σε μεγαλύτερη βελτίωση του λιπιδαιμικού προφίλ και αυξάνει το ποσοστό των ασθενών που επιτυγχάνουν τους θεραπευτικούς στόχους, ενώ υπάρχουν και σημαντικές ενδείξεις για επιπρόσθετο καρδιαγγειακό όφελος σε σύγκριση με τη μονοθεραπεία με στατίνη.

3.3.6.2. Συνδυασμός με φιμπράτες

Ο συνδυασμός της εξετιμίμπης με τις φιμπράτες (κυρίως τη φαινοφιμπράτη) αναλύθηκε στην προηγούμενη ενότητα του παρόντος κεφαλαίου.

3.3.6.3. Συνδυασμός με κολεσεβελάμη

Ο συνδυασμός της εξετιμίμπης με την κολεσεβελάμη μπορεί να χορηγηθεί σε ασθενείς με υπερχοληστερολαιμία που δεν μπορούν να ανεχθούν τη θεραπεία με στατίνες. Η συγκεκριμένη αγωγή οδηγεί σε σημαντική ελάττωση των επιπέδων της LDL-C (μέχρι και κατά 32%), όπως έχει δειχθεί σε διάφορες μελέτες [364-368].

Σε μία από αυτές τις μελέτες σε 40 ασθενείς που λάμβαναν ρητίνες δέσμευσης χολικών οξέων (οι 33 από αυτούς λάμβαναν κολεσεβελάμη) προστέθηκε εξετιμίμπη [364]. Η συνδυασμένη αγωγή οδήγησε σε περαιτέρω ελάττωση της TC κατά 18% ($p < 0.001$), της LDL-C κατά 19% ($p < 0.001$) και των TG κατά 14% ($p = 0.03$), ενώ τα επίπεδα της HDL-C ελαττώθηκαν κατά 4%, χωρίς όμως η μείωση αυτή να είναι στατιστικά σημαντική [364]. Επειδή ορισμένοι ασθενείς λάμβαναν στατίνη ή/και νικοτινικό οξύ, τα αποτελέσματα επανεκτιμήθηκαν μετά από προσαρμογή για τις συγκεκριμένες θεραπείες και δεν παρατηρήθηκε μεταβολή τους.

Σε μία άλλη μελέτη ασθενείς με υπερχοληστερολαιμία που δεν μπορούσαν να ανεχθούν ή δεν ήθελαν να λάβουν στατίνη τυχαιοποιήθηκαν σε αγωγή με εξετιμίμπη ή κολεσεβελάμη για 6 εβδομάδες [365]. Στη συνέχεια προστέθηκε κολεσεβελάμη ή εξετιμίμπη, αντίστοιχα στην υπάρχουσα μονοθεραπεία για άλλες 6 εβδομάδες και ακολούθως το δεύτερο φάρμακο αποσύρθηκε και συνεχίστηκε η αρχική μονοθεραπεία για άλλες 6 εβδομάδες. Μετά το πέρας των πρώτων 6 εβδομάδων η LDL-C ελαττώθηκε κατά 20,3% ($p < 0.01$) και 25,5% ($p < 0.001$) και η non-HDL-C κατά 15,6% ($p < 0.01$) και 22,5% ($p < 0.001$) στις ομάδες της κολεσεβελάμης και της εξετιμίμπης, αντίστοιχα. Μετά την προσθήκη της εξετιμίμπης στην κολεσεβελάμη παρατηρήθηκαν περαιτέρω μειώσεις της LDL-C και της non-HDL-C κατά 19,1% και 16%, αντίστοιχα ($p < 0.001$ και για τις δύο μεταβολές έναντι της μονοθεραπείας). Οι αντίστοιχες επιπρόσθετες μειώσεις της LDL-C και της non-HDL-C όταν η κολεσεβελάμη προστέθηκε στην εξετιμίμπη ήταν 21,1% ($p < 0.005$ έναντι της μονοθεραπείας) και 16,4% ($p < 0.01$ έναντι της μονοθεραπείας). Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές των επιπέδων των TG και της HDL-C κατά τη διάρκεια της μελέτης [365].

Ο Bays και *συν.* διερεύνησαν την επίδραση του συνδυασμού εξετιμίμπης/κολεσεβελάμης έναντι της μονοθεραπείας με εξετιμίμπη στα επίπεδα της LDL-C σε ασθενείς με πρωτοπαθή υπερχοληστερολαιμία (N = 86) [366]. Οι ασθενείς τυχαιοποιήθηκαν σε αγωγή με κολεσεβελάμη (3.8 g) και εξετιμίμπη (10 mg) ή σε μονοθεραπεία με εξετιμίμπη (10 mg) για 6 εβδομάδες. Η ελάττωση της LDL-C στην ομάδα του συνδυασμού ήταν 32,3% έναντι 21,4% στην ομάδα της μονοθεραπείας ($p < 0.0001$). Οι αντίστοιχες μεταβολές στις άλλες λιπιδαιμικές παραμέτρους ήταν: TC (-20,3% έναντι -14,4%; $p = 0.002$), non-HDL-C (-26,7% έναντι -19,5%; $p = 0.0024$), apoA1 (+6,7% έναντι +1,3%; $p = 0.0036$) και apoB (-22,7% έναντι -14,8%; $p = 0.0001$). Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές στα επίπεδα των TG σε καμία ομάδα. Αξίζει να σημειωθεί ότι το 19% των ασθενών στην ομάδα του συνδυασμού πέτυχε τον στόχο της LDL-C <100 mg/dL, ενώ το αντίστοιχο ποσοστό ήταν μόνο 2,3% στην ομάδα της μονοθεραπείας ($p = 0.0148$ μεταξύ των ομάδων) [366].

Ο Rivers και *συν.* εκτίμησαν την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια του συνδυασμού εξετιμίμπης/κολεσεβελάμης σε ασθενείς με δυσλιπιδαιμία και ΣΔ ή μεταβολικό σύνδρομο οι οποίοι δεν μπορούσαν να ανεχθούν τη θεραπεία με στατίνη [367]. Η αγωγή αυτή συσχετίστηκε με σημαντικές μειώσεις των επιπέδων της TC (-27,5%), της LDL-C (-42,2%) και της non-HDL-C (-37,1%). Επιπρόσθετα, το 50% των ασθενών πέτυχε στόχο LDL-C <100 mg/dL [367].

Αντίθετα, σε μία μικρή μελέτη (N = 20) η προσθήκη κολεσεβελάμης σε ασθενείς που έπαιρναν εξετιμίμπη δεν οδήγησε σε βελτίωση του λιπιδαιμικού προφίλ [368], ένα γεγονός που πιθανά οφείλεται στο μικρό αριθμό των ασθενών.

3.3.7 Συνδυασμός εξετιμίμπης με ορλιστάτη

Η χορήγηση εξετιμίμπης σε συνδυασμό με την ορλιστάτη φαίνεται ότι αποτελεί μια ενδιαφέρουσα προσέγγιση σε παχύσαρκα άτομα με δυσλιπιδαιμία. Σε μία μελέτη αξιολογήσαμε την επίδραση της εξετιμίμπης, της ορλιστάτης και του συνδυασμού εξετιμίμπης/ορλιστάτης σε παχύσαρκους ασθενείς (N=86) με υπερχοληστερολαιμία (TC >200 mg/dL) [369]. Τα επίπεδα της LDL-C, καθώς και των sdLDL σωματιδίων ελαττώθηκαν σημαντικά και στις 3 ομάδες. Ωστόσο, αυτή η ελάττωση ήταν αθροιστική στην ομάδα της συνδυασμένης αγωγής σε σύγκριση με τις άλλες δύο ομάδες. Η μείωση της συγκέντρωσης των sdLDL συνοδεύτηκε από αντίστοιχη αύξηση της μέσης διαμέτρου των LDL σωματιδίων. Τα επίπεδα της TC και των TG μειώθηκαν εξίσου στις δύο ομάδες

της μονοθεραπείας, αλλά περισσότερο στην ομάδα της συνδυασμένης αγωγής [369]. Επιπρόσθετα, η συνδυασμένη αγωγή οδήγησε σε βελτίωση των παραμέτρων του μεταβολισμού των υδατανθράκων, καθώς και σε μείωση της ΑΠ και των ηπατικών ενζύμων. Επίσης, σε όλες τις ομάδες παρατηρήθηκε αύξηση της ενεργότητας της PON1. Συμπερασματικά, η συνδυασμένη αγωγή με εξετιμίμπη και ορλιστάτη μπορεί να βελτιώσει σημαντικά τις ποσοτικές και ποιοτικές παραμέτρους του λιπιδαιμικού προφίλ των παχύσαρκων ασθενών με δυσλιπιδαιμία.

3.3.8 Ανεπιθύμητες ενέργειες της εξετιμίμπης

Η εξετιμίμπη έχει ένα πολύ ευνοϊκό προφίλ ασφαλείας και εμφανίζει ελάχιστες αλληλεπιδράσεις με άλλα φάρμακα και για αυτό το λόγο το φάρμακο γίνεται καλά ανεκτό από τους περισσότερους ασθενείς [370]. Οι ανεπιθύμητες ενέργειες της εξετιμίμπης είναι οι παρακάτω:

3.3.8.1 Μυοπάθεια

Σε αντίθεση με τα περισσότερα υπολιπιδαιμικά φάρμακα (π.χ. στατίνες, φαινοφιμπράτη, νικοτινικό οξύ), η εξετιμίμπη δεν έχει συσχετισθεί με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης μυοπάθειας ή ραβδομυόλυσης, είτε χορηγείται ως μονοθεραπεία είτε σε συνδυασμό με στατίνες [323, 326]. Πράγματι, η επίπτωση της αύξησης της κρεατινικής κινάσης (creatine kinase; CK) σε επίπεδα δεκαπλάσια ή ακόμα υψηλότερα της ανώτερης φυσιολογικής τιμής είναι μόλις 0,2% με τη μονοθεραπεία με εξετιμίμπη και δεν διαφέρει από την αντίστοιχη του εικονικού φαρμάκου (0,1%) [371] ή της μονοθεραπείας με στατίνη (0,4%) [323, 326, 362, 371-377]. Επιπλέον, μια ανάλυση ασφαλείας στην οποία συμπεριελήφθησαν 17 τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες (4558 ασθενείς) έδειξε ότι η εξετιμίμπη δεν προάγει ούτε επιδεινώνει την μυοτοξικότητα που προκαλείται από τις στατίνες [378]. Ωστόσο, υπάρχουν ορισμένες μεμονωμένες αναφορές περιστατικών στα οποία η προσθήκη εξετιμίμπης στην αγωγή με στατίνη οδήγησε σε μυαλγίες με ή χωρίς συνοδό αύξηση της CK, τα οποία υποχώρησαν μετά τη διακοπή της εξετιμίμπης [370]. Δεν υπάρχουν αναφορές για αυξήσεις της CK σε επίπεδα δεκαπλάσια ή υψηλότερα της ανώτερης φυσιολογικής τιμής ή/και συμπτώματα από τους μύες με τη συγχορήγηση εξετιμίμπης/φαινοφιμπράτης [72,73].

3.3.8.2 Ηπατοτοξικότητα

Η χορήγηση της εξετιμίμπης ως μονοθεραπεία έχει συσχετισθεί με αυξήσεις των τρανσαμινασών, οι οποίες όμως είναι μεμονωμένες και αναστρέψιμες με τη διακοπή της θεραπείας. Συγκεκριμένα, η επίπτωση της αύξησης των τρανσαμινασών σε επίπεδα τουλάχιστον τριπλάσια των ανώτερων φυσιολογικών τιμών είναι 0,5% με τη μονοθεραπεία με εξετιμίμπη και 0,3% με το εικονικό φάρμακο [323, 326, 362, 371-377, 379-384]. Η συγχορήγηση της εξετιμίμπης με στατίνες αυξάνει σε μικρό βαθμό την επίπτωση της τρανσαμινασαιμίας (1,3% έναντι 0,4% με τη μονοθεραπεία με στατίνες). Η αύξηση αυτή εξαρτάται από τη δόση της στατίνης που χορηγείται [362, 373-376, 380-382, 384]. Αξίζει να σημειωθεί ότι η θεραπεία με εξετιμίμπη (είτε ως μονοθεραπεία είτε σε συνδυασμό με στατίνη) δεν έχει συσχετισθεί με ηπατική ανεπάρκεια, ανάγκη για μεταμόσχευση ήπατος ή θάνατο. Τέλος, υπάρχουν μεμονωμένες περιπτώσεις ασθενών που εμφάνισαν χολοστατική ή αυτοάνοση ηπατίτιδα μετά από τη χορήγηση εξετιμίμπης [370].

3.3.8.3 Γαστρεντερικές διαταραχές

Έχει αναφερθεί η περίπτωση μιας ασθενούς η οποία εμφάνισε παγκρεατίτιδα λίγο μετά την προσθήκη εξετιμίμπης στη συμβαστατίνη που ήδη λάμβανε. Εξαιτίας μη ανεύρεσης άλλου αιτίου για την εμφάνιση παγκρεατίτιδας, αυτή αποδόθηκε στην εξετιμίμπη [385].

Η θεραπεία με εξετιμίμπη αυξάνει τη σύνθεση των χολικών οξέων κατά 17% ($p = NS$) [316]. Ωστόσο, δεν έχει ξεκαθαρισθεί στη βιβλιογραφία αν ο κίνδυνος χολολιθίασης είναι υψηλότερος στα άτομα που λαμβάνουν εξετιμίμπη σε σύγκριση με το γενικό πληθυσμό, ενώ δεν υπάρχουν αναφορές εμφάνισης χολολιθίασης σε ασθενείς που λαμβάνουν συνδυασμό εξετιμίμπης με φιμπράτη.

3.3.8.4 Νεοπλασίες

Όπως ήδη αναφέρθηκε, η εξετιμίμπη δεν φαίνεται να αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης νεοπλασιών.

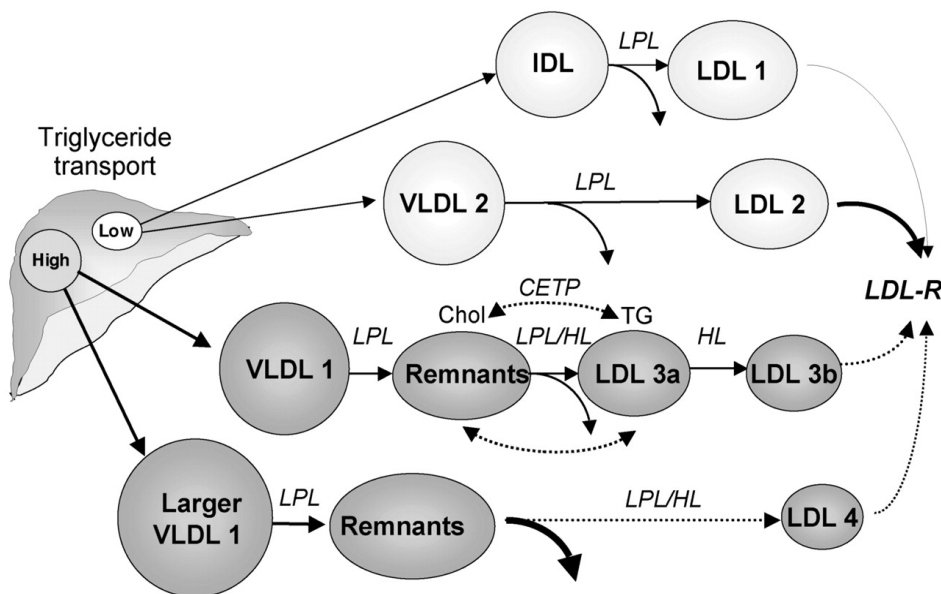
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΕΙΔΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΠΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΘΗΚΑΝ ΣΤΗ ΜΕΛΕΤΗ

4.1 ΜΙΚΡΑ ΠΥΚΝΑ LDL (sdLDL) ΣΩΜΑΤΙΔΙΑ

4.1.1 Σχηματισμός των sdLDL σωματιδίων (Εικόνα 8)

Όπως ήδη αναφέρθηκε, οι LDL είναι ένας ετερογενής πληθυσμός σωματιδίων όσον αφορά το μέγεθος, την πυκνότητα και τη χημική τους σύσταση [386]. Το 1988 οι *Austin και συν* αναγνώρισαν δύο LDL φαινότυπους ανάλογα με το μέγεθος των LDL σωματιδίων: το φαινότυπο A, που χαρακτηρίζεται από την επικράτηση των μεγάλων LDL σωματιδίων (>255 Å) και το φαινότυπο B, που χαρακτηρίζεται από την επικράτηση των sdLDL σωματιδίων (<255 Å) [387].



Εικόνα 8. Σχηματισμός των sdLDL σωματιδίων

Περίπου το 50% της μεταβλητότητας του μεγέθους των LDL σωματιδίων καθορίζεται από τη συγκέντρωση των TG στον ορό [388-390]. Έτσι, σε άτομα με υπερτριγλυκεριδαιμία, αυξάνεται η μεταφορά TG από τις πλούσιες σε TG λιποπρωτεΐνες (VLDL και χυλομικρά) στις LDL (που είναι πτωχές σε TG) και η μεταφορά εστέρων χοληστερόλης από τις LDL στις πλούσιες σε TG λιποπρωτεΐνες (που είναι πτωχές σε χοληστερόλη) διαμέσου της CETP. Η μετακίνηση αυτή των λιπιδίων οδηγεί στο σχηματισμό πλούσιων σε TG και πτωχών σε χοληστερόλη LDL σωματιδίων [391-393]. Τα TG αυτών των LDL στη

συνέχεια υδρολύονται από την ηπατική λιπάση με τελικό αποτέλεσμα το σχηματισμό των sdLDL σωματιδίων [391, 393-395]. Η αλληλουχία αυτή των γεγονότων εξηγεί γιατί ο φαινότυπος B συσχετίζεται με αυξημένα επίπεδα TG [396].

Αρκετά δεδομένα υποστηρίζουν ότι υπάρχει γενετική προδιάθεση για την εμφάνιση των sdLDL [397-402]. Άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν τα επίπεδα των sdLDL είναι το κάπνισμα [403, 404], η διατροφή [405-407], τα επίπεδα της HDL-C [408], οι πολυμορφισμοί της CETP [409-412], της ηπατικής λιπάσης [409, 412, 413], της LPL [412, 414] και της apoA-V [415, 416], καθώς και ο γονότυπος του LDL υποδοχέα σε ασθενείς με οικογενή υπερχοληστερολαιμία [417].

4.1.2 Αθηρογόνος δυνατότητα των sdLDL σωματιδίων

Τα sdLDL σωματίδια είναι ιδιαίτερα αθηρογόνα, ένα γεγονός που αποδίδεται στις φυσικοχημικές τους ιδιότητες. Συγκεκριμένα, τα sdLDL σωματίδια διεισδύουν εύκολα στον υπενδοθηλιακό χώρο και συνδέονται με τις πρωτεογλυκάνες του έσω χιτώνα των αρτηριών [418, 419]. Επιπρόσθετα, εξαιτίας της αυξημένης τους ευαισθησίας στην οξείδωση, προσλαμβάνονται από τα μακροφάγα και σχηματίζουν αφρώδη κύτταρα [420]. Τα οξειδωμένα LDL σωματίδια αναστέλλουν την ενδοθηλιο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή και προάγουν τη δυσλειτουργία του ενδοθηλίου [421, 422]. Τέλος, τα sdLDL σωματίδια δεν αναγνωρίζονται εύκολα από τον LDL υποδοχέα με αποτέλεσμα τη μεγαλύτερη παραμονή τους στην κυκλοφορία [423-426].

4.1.3 Συσχέτιση των sdLDL σωματιδίων με την εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου

Αρκετές μελέτες έδειξαν σημαντική θετική συσχέτιση ανάμεσα στη συγκέντρωση των sdLDL σωματιδίων και τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου [427, 428]. Η αυξημένη συγκέντρωση των sdLDL έχει συσχετισθεί με έναν κατά 2-5 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης ΣΝ (εμφράγματος του μυοκαρδίου ή αγγειογραφικά επιβεβαιωμένης ΣΝ) σε συγχρονικές μελέτες [387, 429-433]. Επιπρόσθετα, αρκετές προοπτικές μελέτες έδειξαν ότι το μικρό μέγεθος των LDL σωματιδίων αποτελεί σημαντικό προγνωστικό δείκτη για την εμφάνιση ΣΝ [434-437]. Στην Quebec Cardiovascular Study μια μέγιστη διάμετρος των LDL σωματιδίων <25.4 nm συσχετίστηκε με αύξηση του κινδύνου εμφάνισης ΣΝ κατά 3.6 φορές (95% CI 1.5-8.8) [435]. Η συσχέτιση αυτή ήταν ανεξάρτητη από τα επίπεδα των TG, της HDL-C και της LDL-C, ωστόσο ελαττώθηκε μετά τη διόρθωση για τα επίπεδα της apoB και για το λόγο TC/HDL-C. Μία ανάλυση των

αποτελεσμάτων της ίδιας μελέτης έδειξε μία ανεξάρτητη συσχέτιση ανάμεσα στη συγκέντρωση της χοληστερόλης των sdLDL και τη βαρύτητα της ΣΝ, ανεξάρτητα από τα επίπεδα της LDL-C, της HDL-C και της apoB ($p < 0.05$) [438]. Ωστόσο, στην προοπτική μελέτη EPIC-Norfolk η συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων της sdLDL-C και της εμφάνισης ΣΝ δεν ήταν ανεξάρτητη από τις υπόλοιπες λιπιδαιμικές παραμέτρους [439].

Επιπρόσθετα, σε ορισμένες μελέτες αναδείχθηκε συσχέτιση μεταξύ των sdLDL σωματιδίων και της αθηροσκληρωτικής νόσου των καρωτίδων [440-442].

Παρά τις παραπάνω ενδείξεις για την ύπαρξη θετικής συσχέτισης μεταξύ των sdLDL σωματιδίων και του κινδύνου εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου, υπάρχουν και δεδομένα που υποστηρίζουν το αντίθετο. Για παράδειγμα, μια μελέτη ασθενών/μαρτύρων έδειξε ότι νορμολιπιδαιμικοί ασθενείς με ΣΝ είχαν αυξημένο μέγεθος LDL σωματιδίων σε σύγκριση με υγιείς εθελοντές και ότι η συσχέτιση των μεγάλων LDL σωματιδίων με τη ΣΝ ήταν ανεξάρτητη από την ηλικία, το BMI και τα επίπεδα της HDL-C και της VLDL-C [443]. Επίσης, το αυξημένο μέγεθος των LDL σωματιδίων ήταν ανεξάρτητος προγνωστικός δείκτης για την εμφάνιση νέων οξέων στεφανιαίων επεισοδίων σε ασθενείς με ΣΝ [444].

4.2 Η ΣΥΝΔΕΔΕΜΕΝΗ ΜΕ ΛΙΠΟΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΦΩΣΦΟΛΙΠΑΣΗ A₂ (LIPOPROTEIN ASSOCIATED PHOSPHOLIPASE A₂; Lp-PLA₂)

4.2.1 Ο παράγοντας ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (platelet activating factor; PAF)

Ο παράγοντας ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (platelet activating factor, PAF) είναι ένα αιθερικό φωσφολιπίδιο με πολυάριθμες βιολογικές δράσεις. Οφείλει την ονομασία του στην ιδιότητα του να επάγει την έκκριση βιοδραστικών ουσιών από τα αιμοπετάλια, καθώς και τη συσσώρευση αυτών των κυττάρων [445].

In vitro μελέτες έδειξαν ότι διάφοροι τύποι ανθρώπινων κυττάρων έχουν την ικανότητα να παράγουν PAF τόσο σε βασικές συνθήκες όσο και μετά από κατάλληλα ερεθίσματα. Τέτοια κύτταρα είναι τα ενδοθηλιακά κύτταρα [446], τα πολυμορφοπύρρηνα ουδετερόφιλα [447], τα ηωσινόφιλα, τα μακροφάγα, τα μονοκύτταρα [447], τα αιμοπετάλια, τα μαστοκύτταρα, καθώς και τα σπερματοζώαρια [448]. Ο PAF, διαθέτοντας παρακρινική δράση, ενεργοποιεί τα γειτονικά κύτταρα (π.χ. τα αιμοπετάλια, τα μακροφάγα, τα λεία μυϊκά κύτταρα) και επάγει βιολογικά φαινόμενα, όπως την προσκόλληση των αιμοπεταλίων, τη βιοσύνθεση εικοσανοειδών και την παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου [449, 450].

4.2.2 Εκκρινόμενη μορφή της PAF-AH (LpPLA₂ του πλάσματος)

Η Lp-PLA₂ του πλάσματος περιγράφηκε για πρώτη φορά από τους Farr και συνεργάτες [451], οι οποίοι παρατήρησαν ότι ο PAF χάνει τη βιολογική του δραστηριότητα όταν επωασθεί παρουσία ορού κουνελιού. Η απενεργοποίηση του PAF οφείλεται στην υδρόλυση του εστερικού δεσμού στη θέση 2 του σκελετού της γλυκερόλης, η οποία έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία του βιολογικά αδρανούς lyso-PAF [452]. Το ένζυμο που καταλύει την αντίδραση αυτή ονομάστηκε ακετυλοϋδρολάση του παράγοντα των αιμοπεταλίων (PAF-acetylhydrolase; PAF-AH ή LpPLA₂). Το cDNA της LpPLA₂ κωδικοποιεί μία πρωτεΐνη μεγέθους 441 αμινοξέων, η οποία έχει μοριακό βάρος 45,4 kDa [453, 454].

Ποικίλα κύτταρα, όπως τα μακροφάγα [455], τα αιμοπετάλια [456, 457], τα ενεργοποιημένα μαστοκύτταρα [458] και τα ηπατοκύτταρα [459] έχουν την ικανότητα να παράγουν και να εκκρίνουν το ένζυμο στο πλάσμα. Μελέτες έδειξαν ότι η LpPLA₂ του πλάσματος παράγεται κυρίως από τα μακροφάγα, τα οποία ωστόσο διατηρούν ένα μικρό μέρος από την ενεργότητα του ενζύμου [460]. Παράλληλα, έχει παρατηρηθεί μία σημαντική έκφραση της LpPLA₂ του πλάσματος στον εγκέφαλο, το λευκό λιπώδη ιστό, τον πλακούντα [460] και την ανθρώπινη αορτή [461]. Τα ηπατοκύτταρα παράγουν σημαντικές ποσότητες Lp-PLA₂ μετά από κατάλληλο ερεθισμό, αλλά το μεγαλύτερο μέρος του ενζύμου εκκρίνεται στη χολή [462]. Αντίθετα τα κύτταρα Kupffer του ήπατος (τα οποία ανήκουν στο σύστημα μονοκυττάρων-μακροφάγων) μετά από ερεθισμό με ενδοτοξίνη εκκρίνουν το μεγαλύτερο ποσοστό του παραγόμενου ενζύμου στο πλάσμα [462].

Η LpPLA₂ του πλάσματος είναι ένα υδρόφοβο μόριο, το οποίο κυκλοφορεί συνδεδεμένο με τα λιποπρωτεϊνικά σωματίδια [453]. Συγκεκριμένα, το 70-80% της ενεργότητας της LpPLA₂ ανιχνεύεται στις LDL και το υπόλοιπο 20-30% στις HDL [453, 463, 464]. Η κατανομή του ενζύμου στα υποκλάσματα των λιποπρωτεϊνών δεν είναι ομοιόμορφη. Έτσι, τόσο στις LDL όσο και στις HDL το μεγαλύτερο μέρος της ενεργότητας του ενζύμου ανιχνεύεται στα μικρά, πυκνά λιποπρωτεϊνικά σωματίδια [465, 466]. Πρέπει να επισημανθεί ότι η LpPLA₂ δεν περιέχεται σε όλα τα LDL σωματίδια. Συγκεκριμένα, 1/10000 μεγάλα και 1/100 sdLDL περιέχει LpPLA₂ [466], δηλαδή τα περισσότερα LDL σωματίδια δεν περιέχουν LpPLA₂ [466]. Μια άλλη λιποπρωτεΐνη η οποία έχει υψηλά επίπεδα ενεργότητας της LpPLA₂ είναι η λιποπρωτεΐνη Lp(a) [467, 468].

Παρά το γεγονός ότι μια από τις δράσεις της Lp-PLA₂ είναι η αδρανοποίηση των οξειδωμένων φωσφολιπιδίων που παράγονται σε συνθήκες οξειδωτικού stress, το ίδιο το ένζυμο υπόκειται οξειδωτική απενεργοποίηση [464]. Φαίνεται ότι τόσο φυσικές (π.χ. ελεύθερες ρίζες οξυγόνου και βαρέα μέταλλα [469, 470]) όσο και μη φυσικές (π.χ. καπνός τσιγάρων [471]) οξειδωτικές ουσίες έχουν την ικανότητα να απενεργοποιούν την LpPLA₂. Η παραγωγή της Lp-PLA₂ ρυθμίζεται από διάφορους εξωγενείς παράγοντες, όπως τα υποστρώματα και μια ποικιλία κυτταροκινών και στεροειδών ορμονών, καθώς και από την κυτταρική διαφοροποίηση [472, 473]. Επιπρόσθετα, ο βαθμός της διαφοροποίησης των κυττάρων φαίνεται ότι διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ικανότητα των φλεγμονωδών και αντιφλεγμονωδών παραγόντων να ρυθμίζουν την έκκριση της LpPLA₂ [472, 474-476].

4.2.3 Συσχέτιση της LpPLA₂ με την εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου

Η LpPLA₂ συνδέεται με την apoB των LDL και αυτό το σύμπλοκο μεταφέρεται σε τμήματα του αγγειακού τοιχώματος με αυξημένη ευαισθησία για τη δημιουργία αθηρωματικής πλάκας [477]. Η οξείδωση της LDL έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό φωσφολιπιδίων που υδρολύονται από την LpPLA₂, με αποτέλεσμα το σχηματισμό δυο ομάδων βιοενεργών ουσιών, της lysoPC και των οξειδωμένων μη εστεροποιημένων λιπαρών οξέων (oxidized non-esterified fatty acids; oxNEFA) [477]. Τα κατεξοχόν αθηρογόνα sdLDL σωματίδια περιέχουν σημαντικά μεγαλύτερες συγκεντρώσεις lysoPC σε σύγκριση με τα μεγαλύτερα και λιγότερο αθηρογόνα υποκλάσματα των LDL [478]. Ο εμπλουτισμός των sdLDL σωματιδίων με LpPLA₂ έχει ως αποτέλεσμα την αυξημένη παραγωγή lysoPC κατά τη διάρκεια της οξείδωσης αυτών των σωματιδίων σε σύγκριση με τα μεγαλύτερα LDL σωματίδια, τόσο σε νορμολιπιδαιμικά άτομα όσο και σε υπερχοληστερολαιμικούς ασθενείς [478, 479]. Τα oxNEFA, το δεύτερο προϊόν της αντίδρασης που καταλύεται από την LpPLA₂ του πλάσματος, με τη σειρά τους δρουν χημειοτακτικά για τα μονοκύτταρα/μακροφάγα [477]. Επιπρόσθετα, φαίνεται ότι τόσο η lysoPC όσο και τα oxNEFA πιθανά εμπλέκονται και στη μετατροπή μιας σταθερής αθηρωματικής πλάκας σε ασταθή [477, 480].

Σε αντιδιαστολή με την LpPLA₂ του πλάσματος, που αντικατοπτρίζει κυρίως το ποσοστό της ενζυμικής ενεργότητας που βρίσκεται συνδεδεμένο στις λιποπρωτεΐνες που περιέχουν apoB, η LpPLA₂ των HDL (HDL-LpPLA₂) διαθέτει σημαντικές αντιαθηρογόνες ιδιότητες και προστατεύει από την εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου. Έτσι, αν και ποσοτικά η ενεργότητα των HDL σωματιδίων αντιπροσωπεύει μικρό μόνο ποσοστό της συνολικής

ενζυμικής ενεργότητας του πλάσματος [481], η ικανότητα της HDL να προστατεύει την LDL από την οξείδωση [482], καθώς και να μειώνει τη βιολογική δραστικότητα της ήδη οξειδωμένης LDL [483], οφείλεται σε μεγάλο βαθμό στην ιδιότητά της να υδρολύει τον PAF και τα οξειδωμένα φωσφολιπίδια.

Μελέτες σε υγιή άτομα έδειξαν ότι η ενεργότητα της LpPLA₂ του πλάσματος αυξάνεται προοδευτικά με την πάροδο της ηλικίας. Παράλληλα, οι άνδρες εμφανίζουν σημαντικά υψηλότερη ενεργότητα του ενζύμου σε σύγκριση με τις γυναίκες της ίδιας ηλικιακής ομάδας [484-486]. Αυτές οι διαφορές μεταξύ των δύο φύλων, οι οποίες αποδίδονται στην κατασταλτική επίδραση των οιστρογόνων στην παραγωγή του ενζύμου, τείνουν να εξαλειφθούν μετά την ηλικία των 50 ετών [487]. Στις περισσότερες μελέτες η ενεργότητα του ενζύμου στο πλάσμα εμφάνιζε θετική συσχέτιση με τα επίπεδα της TC και της LDL-C, καθώς και με τις συγκεντρώσεις της apoB [485, 488-490]. Περίπου το 60% της διακύμανσης της ενεργότητας της LpPLA₂

που παρατηρείται σε υγιή άτομα οφείλεται σε γενετικούς παράγοντες [488].

Σε μια ανάλυση των αποτελεσμάτων της μελέτης West of Scotland Coronary Prevention Study (WOSCOPS) [491] 508 μέσης ηλικίας άνδρες με υπερχοληστερολαιμία οι οποίοι εμφάνισαν ΣΝ σε μια περίοδο παρακολούθησης 4.9 ετών συγκρίθηκαν με 1160 υγιείς μάρτυρες. Στη μελέτη αυτή, η κατά μία σταθερή απόκλιση αύξηση της συγκέντρωσης της LpPLA₂ συσχετίστηκε με έναν κατά 18% μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης ΣΝ.

Μια υποανάλυση της μελέτης ARIC [492] με 608 άνδρες και γυναίκες που εμφάνισαν ΣΝ και 740 άτομα της ίδιας ηλικίας και φύλου χωρίς ΣΝ, οι οποίοι παρακολούθηθηκαν για 6-8 έτη, έδειξε ότι τα άτομα με την υψηλότερη συγκέντρωση Lp-PLA₂ είχαν έναν κατά 78% μεγαλύτερο κίνδυνο για την εμφάνιση ΣΝ σε σύγκριση με τα άτομα που είχαν τη χαμηλότερη συγκέντρωση Lp-PLA₂. Πρέπει να επισημανθεί ότι σε άτομα με επίπεδα LDL-C < 130 mg/dL, τα επίπεδα της LpPLA₂ συσχετιζόνταν σημαντικά και ανεξάρτητα με διπλάσιο κίνδυνο για την εμφάνιση ΣΝ. Στη μελέτη MONitoring of trends and determinants In Cardiovascular Disease (MONICA) συμμετείχαν 934 υγιείς άνδρες μέσης ηλικίας με μέτρια υπερχοληστερολαιμία και είχε διάρκεια παρακολούθησης 14 έτη [493]. Στη μελέτη αυτή, η κατά μία σταθερή απόκλιση αύξηση της συγκέντρωσης της LpPLA₂ συσχετίστηκε ανεξάρτητα από τους κλασικούς παράγοντες κινδύνου με έναν κατά 28% μεγαλύτερο κίνδυνο για την εμφάνιση ΣΝ. Επιπρόσθετες ενδείξεις για τη συσχέτιση μεταξύ της ενεργότητας ή της μάζας του ενζύμου και της καρδιαγγειακής νόσου παρέχονται και από πιο πρόσφατες μελέτες [494-497].

Η συσχέτιση της Lp-PLA₂ με την εμφάνιση αγγειακής εγκεφαλικής νόσου έχει επίσης εκτιμηθεί σε αρκετές μελέτες. Η μελέτη Rotterdam έδειξε ότι οι ασθενείς με τα υψηλότερα επίπεδα ενεργότητας Lp-PLA₂ διέτρεχαν έναν κατά 97% μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης ΑΕΕ σε σύγκριση με τους ασθενείς με τα χαμηλότερα επίπεδα ενεργότητας του ενζύμου [494]. Επιπρόσθετα, η αύξηση της ενεργότητας της Lp-PLA₂ κατά μία σταθερή απόκλιση συσχετιζόνταν με ένα κατά 27% μεγαλύτερο κίνδυνο για την εμφάνιση ΑΕΕ [494]. Παρόμοια ήταν και τα αποτελέσματα της μελέτης ARIC [498].

Τέλος, μια μετα-ανάλυση των αποτελεσμάτων 14 μελετών (περίπου 20.500 ασθενείς) έδειξε ότι υπάρχει σημαντική συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης της LpPLA₂ και του κινδύνου εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου [499]. Συγκεκριμένα, η αύξηση των επιπέδων του ενζύμου, ανεξάρτητα από τους κλασικούς παράγοντες κινδύνου, βρέθηκε ότι οδηγεί σε έναν κατά 60% αυξημένο κίνδυνο για την εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου.

Ένα πρόβλημα που έχει ανακύψει στη βιβλιογραφία είναι ότι δεν υπάρχει μία ενιαία μέθοδος εκτίμησης της LpPLA₂. Έτσι, υπάρχουν μελέτες που χρησιμοποιούν την ενεργότητα και μελέτες που χρησιμοποιούν τη μάζα του ενζύμου, ενώ η συσχέτιση μεταξύ αυτών των δύο παραμέτρων είναι σχετικά χαμηλή ($r = 0.36$) [480]. Παρόλα αυτά, πριν από μερικά έτη (2008) διατυπώθηκε από μία Επιτροπή Εμπειρογνομόνων η άποψη ότι η συγκέντρωση της LpPLA₂ πρέπει να λαμβάνεται υπόψη στον καθορισμό του καρδιαγγειακού κινδύνου, κυρίως σε ασθενείς μετρίου και υψηλού κινδύνου για την εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου [500]. Η σύσταση αυτή βασίστηκε στις κατευθυντήριες οδηγίες του ΑΤΡΙΙΙ και της Αμερικανικής Καρδιολογικής Εταιρείας (American Heart Association; AHA) για την εκτίμηση του καρδιαγγειακού κινδύνου (Εικόνα 9). Σύμφωνα με αυτές τις οδηγίες η παρουσία υψηλών συγκεντρώσεων LpPLA₂ (>200 ng/mL) αυξάνει τον εκτιμώμενο 10ετή κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου, μετατοπίζοντας τα άτομα μέτριου κινδύνου σε υψηλού κινδύνου και τα άτομα υψηλού κινδύνου σε πολύ υψηλού κινδύνου.

Λαμβάνοντας υπόψη τη θετική συσχέτιση της ενεργότητας της Lp-PLA₂ με τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου, η φαρμακοβιομηχανία προχώρησε στην παρασκευή αναστολέων της Lp-PLA₂. Πράγματι, έχουν διενεργηθεί ορισμένες μελέτες με το darapladib, το μοναδικό φάρμακο αυτής της κατηγορίας, οι οποίες θα παρουσιασθούν αμέσως παρακάτω.

Μία μελέτη ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο διερεύνησε την επίδραση του darapladib στη σταθερότητα (deformability) του στεφανιαίου αθηρώματος και στα επίπεδα της hs-

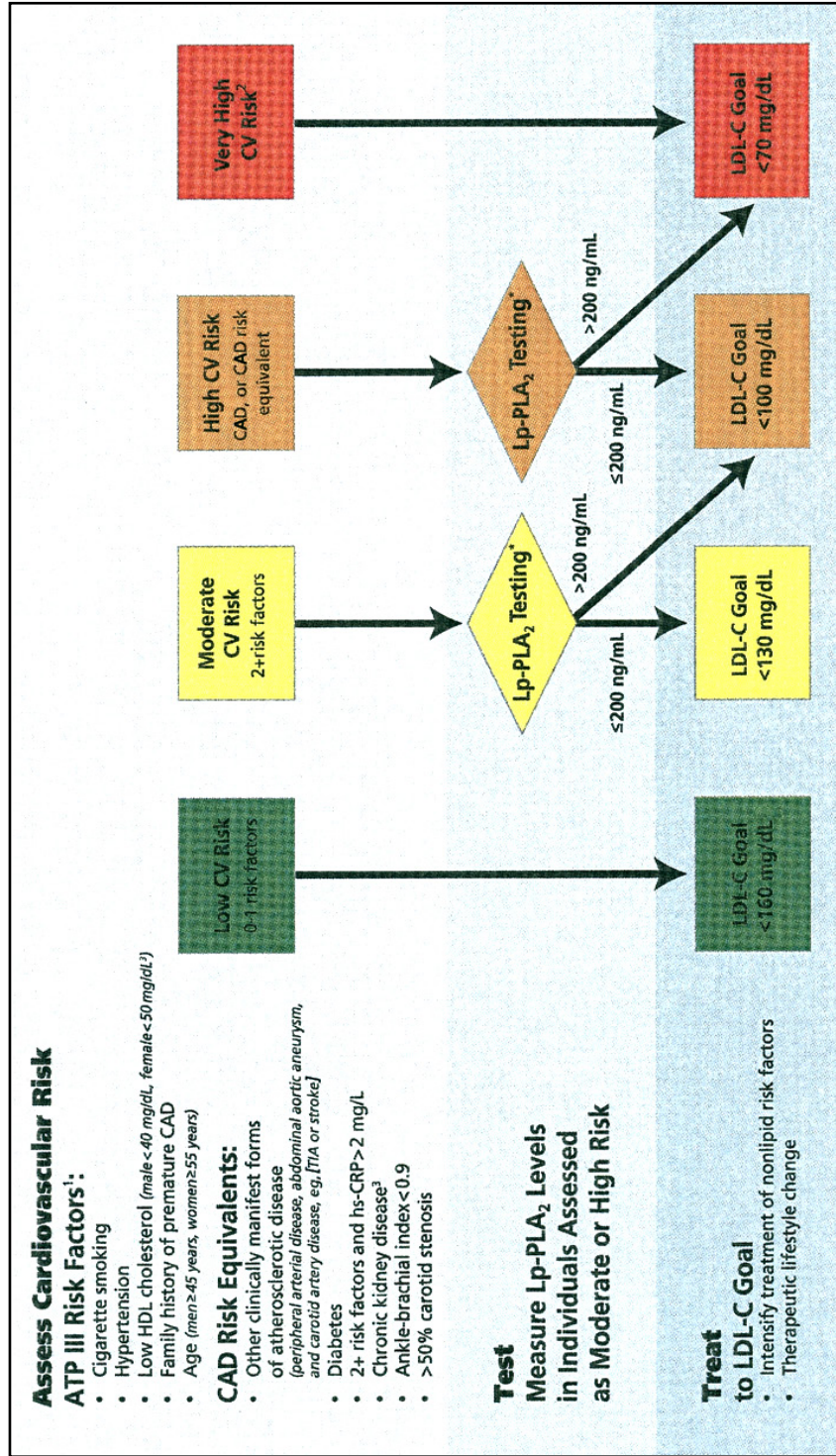
CRP σε 330 ασθενείς με αγγειογραφικά επιβεβαιωμένη ΣΝ. Μεταξύ των δευτερογενών καταληκτικών σημείων της μελέτης ήταν η μεταβολή του μεγέθους του νεκρωτικού πυρήνα της αθηρωματικής πλάκας και η μεταβολή του μεγέθους του αθηρώματος [501]. Η ενεργότητα της Lp-PLA₂ ελαττώθηκε κατά 59% με το darapladib ($p < 0.001$ σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο). Ωστόσο, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές μεταξύ των δύο ομάδων στη μεταβολή του στεφανιαίου αθηρώματος και στα επίπεδα της hs-CRP. Αξίζει να σημειωθεί ότι το μέγεθος του νεκρωτικού πυρήνα της αθηρωματικής πλάκας αυξήθηκε στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου, ενώ το darapladib ανέστειλε αυτή την αύξηση, με αποτέλεσμα την εμφάνιση σημαντικής διαφοράς μεταξύ των δύο ομάδων στη συγκεκριμένη παράμετρο (-5.2 mm^2 ; $p = 0.012$). Αντίθετα, δεν παρατηρήθηκε διαφορά στη μεταβολή του μεγέθους του αθηρώματος μεταξύ των δύο ομάδων [501]. Η μελέτη αυτή ήταν η πρώτη που έδειξε ότι το darapladib μπορεί να προλάβει την αύξηση του μεγέθους του νεκρωτικού πυρήνα της αθηρωματικής πλάκας.

Σε μια άλλη μελέτη σε ασθενείς που θα υποβάλλονταν σε ενδαρτηρεκτομή των καρωτίδων χορηγήθηκε darapladib 40 mg (N = 34) ή 80 mg (N = 34) ή εικονικό φάρμακο (N = 34) για 14 ημέρες. Η ενδαρτηρεκτομή διενεργήθηκε 24 ώρες μετά την τελευταία δόση του φαρμάκου. Το πρωτογενές καταληκτικό σημείο της μελέτης ήταν η μεταβολή της ενεργότητας της Lp-PLA₂ στο πλάσμα και την αθηρωματική πλάκα [502]. Στις ομάδες που έλαβαν darapladib παρατηρήθηκαν σημαντικές μειώσεις της ενεργότητας της Lp-PLA₂ τόσο στο πλάσμα (-52% με τα 40 mg και -81% με τα 80 mg; $p < 0.001$ σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο), όσο και στην αθηρωματική πλάκα (-52% με τα 40 mg και -80% με τα 80 mg; $p < 0.0001$ σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο). Τα ενθαρρυντικά αποτελέσματα αυτής της μελέτης οδήγησαν σε μεταγενέστερες μελέτες με σκληρά καταληκτικά σημεία.

Η μεγαλύτερη από αυτές τις μελέτες ήταν η Stabilization of Atherosclerotic Plaque by Initiation of Darapladib Therapy (STABILITY) στην οποία 15.828 ασθενείς με σταθερή ΣΝ τυχαιοποιήθηκαν σε θεραπεία με darapladib (160 mg) ή εικονικό φάρμακο [503]. Το πρωτογενές καταληκτικό σημείο της μελέτης ήταν ο συνδυασμός καρδιαγγειακού θανάτου, εμφράγματος του μυοκαρδίου και ΑΕΕ. Μετά από μέση διάρκεια παρακολούθησης 3,7 ετών δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων στο πρωτογενές καταληκτικό σημείο ή τις επιμέρους παραμέτρους του. Επιπλέον, η ολική θνητότητα (από κάθε αίτιο) ήταν παρόμοια στις δύο ομάδες [503]. Ωστόσο, στην ομάδα του darapladib παρατηρήθηκε ελάττωση των μειζόνων και των συνολικών στεφανιαίων

επεισοδίων σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο (HR = 0.90; p = 0.045 και HR = 0.91; p = 0.02, αντίστοιχα) [503].

Μια άλλη μεγάλη μελέτη που δημοσιεύθηκε την ίδια περίοδο με τη μελέτη STABILITY ήταν η SOLID-TIMI 52. Στη μελέτη αυτή 13.026 ασθενείς τυχαιοποιήθηκαν εντός 30 ημερών από ένα οξύ στεφανιαίο σύμβαμα (ST ή non-ST οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου) σε dargapladib (160 mg) ή εικονικό φάρμακο [504]. Η μέση διάρκεια παρακολούθησης της μελέτης ήταν 2.5 έτη και το πρωτογενές καταληκτικό σημείο ήταν ο συνδυασμός στεφανιαίου θανάτου, εμφράγματος του μυοκαρδίου ή επείγουσας στεφανιαίας επαναγγείωσης για ισχαιμία του μυοκαρδίου. Δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων στο πρωτογενές καταληκτικό σημείο ή τις επιμέρους παραμέτρους του, ενώ η ολική θνητότητα ήταν παρόμοια στις δύο ομάδες. Επιπλέον, παρατηρήθηκαν περισσότερες ανεπιθύμητες ενέργειες (κυρίως διάρροια και δυσσοσμία του δέρματος, των ούρων και των κοπράνων) στην ομάδα του ενεργού φαρμάκου [504]. Μετά την ανακοίνωση των αρνητικών αποτελεσμάτων των δύο αυτών μεγάλων τυχαιοποιημένων κλινικών μελετών, διακόπηκε η ερευνητική δραστηριότητα στο συγκεκριμένο τομέα.



Εικόνα 9. Παλαιότερες οδηγίες για την χρησιμοποίηση των επιπέδων της LpPLA₂ στην εκτίμηση του κινδύνου εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου

4.3 ΠΑΡΑΟΞΟΝΑΣΗ 1 (PON1)

Η PON1 είναι ένα ένζυμο με μοριακό βάρος 43 kDa, που παράγεται κυρίως στο ήπαρ [505]. Συνδέεται σχεδόν αποκλειστικά με τις HDL και έχει ιδιότητες αρυλεστεράσης και παραοξονάσης [505, 506]. Η PON1 υδρολύει πολλές ουσίες, όπως οργανοφωσφορικά και νευροτοξικούς παράγοντες, καθώς και εξωγενείς και ενδογενείς λακτόνες [505].

Το ένζυμο αυτό πιθανά διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη διαδικασία της αθηροσκλήρωσης, καθώς μεταβολίζει οξειδωμένα λιπίδια των LDL και των HDL, ενώ παράλληλα θεωρείται ως το συστατικό εκείνο στο οποίο οφείλεται κατά κύριο λόγο η αντιοξειδωτική δράση των HDL [507]. Επιπρόσθετα, η PON1 φαίνεται ότι αναστέλλει την οξειδωτική τροποποίηση των LDL και HDL [506]. Μάλιστα, έχει διατυπωθεί η άποψη ότι η PON1 πιθανά είναι πιο αποτελεσματική από την LCAT και την apoA1 όσον αφορά την ικανότητα αναστολής της οξείδωσης των LDL [506]. Σε αυτή την ιδιότητα ενδέχεται να οφείλεται κατά κύριο λόγο η αντιαθηρογόνος δράση αυτού του ενζύμου [506].

Η ενεργότητα και η μάζα της PON1 συσχετίζονται έως ένα βαθμό με τη συγκέντρωση της HDL-C και της apoA1 [508]. Εντούτοις, αυτές οι παράμετροι δεν αποτελούν τους μοναδικούς ρυθμιστές της ενεργότητας του ενζύμου [506], καθώς γενετικοί παράγοντες διαδραματίζουν εξίσου σημαντικό ρόλο στην ενεργότητα της PON1 [506]. Το γονίδιο που κωδικοποιεί την έκφραση της PON1 βρίσκεται στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος 7. Η PON1 έχει 2 πολυμορφισμούς αμινοξέων: ένα στην θέση 55 (μεθειονίνη/λευκίνη, M/L) και ένα στην θέση 192 (αργινίνη/γλουταμίνη, R/Q) [506]. Οι πολυμορφισμοί PON1 55 MM/PON1 192 QQ συσχετίζονται με τη μέγιστη ικανότητα της PON1 και των HDL να προστατεύουν έναντι της οξείδωσης των LDL [507, 509, 510].

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον εμφανίζει η συσχέτιση ανάμεσα στην ενεργότητα του ενζύμου και την αθηροσκλήρωση. Έχει διατυπωθεί η υπόθεση ότι η χρόνια ελάττωση της ενεργότητας του ενζύμου οδηγεί σε αύξηση της οξείδωσης των LDL [506]. Παράλληλα, η οξεία μείωση αυτής της ενεργότητας ενδέχεται να προδιαθέτει σε οξέα αγγειακά συμβάματα, καθώς αυξάνει την οξείδωση των LDL σωματιδίων, με αποτέλεσμα την αύξηση του αριθμού των αφρωδών κυττάρων στην αθηρωματική πλάκα, η οποία γίνεται πιο ευάλωτη σε ρήξη [506]. Πράγματι, σε μελέτες παρατήρησης βρέθηκε ότι ασθενείς με ΣΝ εμφάνιζαν μειωμένη ενεργότητα της PON1 σε σύγκριση με υγιή άτομα [506, 511, 512]. Αυτό το εύρημα έχει παρατηρηθεί ήδη από τις πρώτες ώρες μετά από ένα οξύ στεφανιαίο επεισόδιο [511]. Ορισμένοι πολυμορφισμοί της PON1, ιδιαίτερα εκείνοι που περιέχουν τα αλληλία L και R έχουν συσχετισθεί με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης αθηροσκληρωτικής νόσου [506,

513, 514], ενώ μία μετα-ανάλυση έδειξε ότι ο πολυμορφισμός PON1 rs662 συσχετίζεται με μία μικρή αύξηση του κινδύνου για ισχαιμικό ΑΕΕ [515].

Η ενεργότητα της PON1 ποικίλει σε διαφορετικούς πληθυσμούς, ένα γεγονός το οποίο δεν μπορεί να αποδοθεί αποκλειστικά σε γενετικούς παράγοντες [516]. Φαίνεται ότι και εξωγενείς παράγοντες, όπως για παράδειγμα η διατροφή, επηρεάζουν την έκφραση και την ενεργότητα της PON1. Πειραματικές μελέτες έδειξαν ότι μια δίαιτα πλούσια σε χοληστερόλη, καθώς και τα έλαια της μαγειρικής, ελαττώνουν την ενεργότητα του ενζύμου [506, 517, 518]. Αντίθετα, η κατανάλωση οινοπνεύματος φαίνεται ότι την αυξάνει [519]. Επιπρόσθετα, η ενεργότητα της PON1 έχει συσχετισθεί αρνητικά με το BMI [506], ενώ σύμφωνα με πειραματικά δεδομένα η φλεγμονή συσχετίζεται με μειωμένη ενεργότητα της PON1 [506, 520-522]. Πράγματι, η ενεργότητα της PON1 βρέθηκε χαμηλή σε παχύσαρκους ασθενείς [523]. Τα χαμηλά επίπεδα της HDL-C που εμφανίζουν αυτοί οι ασθενείς φαίνεται επίσης ότι συμβάλλουν στη μειωμένη ενεργότητα της PON1, καθώς οι δυο αυτές παράμετροι εμφανίζουν θετική συσχέτιση [523]. Παράλληλα, οι ασθενείς με μεταβολικό σύνδρομο φαίνεται ότι έχουν μειωμένη ενεργότητα της PON1 σε σύγκριση με άτομα που δεν πληρούν τα κριτήρια για τη διάγνωση του συνδρόμου, ένα εύρημα που μπορεί να ερμηνευθεί (εν μέρει τουλάχιστον) από την παρουσία σε αυτούς τους ασθενείς χαμηλών επιπέδων HDL-C, παχυσαρκίας και υποκλινικής φλεγμονής [524-526]. Ωστόσο, μία άλλη μελέτη δεν έδειξε σημαντική επίδραση του μεταβολικού συνδρόμου στην ενεργότητα της PON1 σε παχύσαρκους μη διαβητικούς ασθενείς [527]. Φαίνεται όμως ότι γενικά οι καταστάσεις που αυξάνουν σημαντικά τον καρδιαγγειακό κίνδυνο, όπως είναι ο ΣΔ [528-531], η υπερχοληστερολαιμία [528] και η ΧΝΝ [532-535] συσχετίζονται με μειωμένη ενεργότητα της PON1.

Ορισμένες κλινικές μελέτες διερεύνησαν την επίδραση διαφόρων υπολιπιδαιμικών φαρμάκων στην ενεργότητα της PON1. Κάποιες από αυτές τις μελέτες έδειξαν ότι η χορήγηση σιμβαστατίνης και ατορβαστατίνης οδηγεί σε αύξηση της ενεργότητας της PON1 κατά 5-23% [536-542], ένα εύρημα που δεν επιβεβαιώθηκε από άλλους ερευνητές [543, 544]. Η επίδραση των φιμπρατών στην ενεργότητα του ενζύμου επίσης ποικίλει. Έχει αναφερθεί αύξηση της ενεργότητας της PON1 σε ασθενείς με δυσλιπιδαιμία, ΣΔ2 ή ΣΝ που έλαβαν φαινοφιμπράτη ή γεμφιπροζίλη [263-265, 545]. Αντίθετα, σε ασθενείς με υπερλιπιδαιμία τύπου ΙΑ, ΙΙΒ και ΙV η φαινοφιμπράτη δεν επηρέασε σημαντικά την ενεργότητα της PON1 [247]. Τέλος, σε μια μελέτη η εξετιμίμπη αύξησε την ενεργότητα της PON1 σε υπέρβαρους και παχύσαρκους ασθενείς με υπερλιπιδαιμία, ενώ σε μία άλλη

μελέτη σε παρόμοιο πληθυσμό το εύρημα αυτό δεν επιβεβαιώθηκε [546]. Τέλος, μια μελέτη έδειξε ότι η ορλιστάτη αυξάνει την ενεργότητα της PON1 σε παχύσαρκους ασθενείς [547].

4.4 ΛΕΠΤΙΝΗ

Η λεπτίνη είναι μία πρωτεΐνη 16 kD που ανακαλύφθηκε το 1994, αποτελεί το προϊόν του γονιδίου *ob* στο χρωμόσωμα 7 και ανήκει στην υπερικογένεια των κυτταροκινών τύπου 1. Αποτελείται από 4 αντιπαράλληλες α -έλικες και η δράση της διαμεσολαβείται από τον υποδοχέα της, μία διαμεμβρανική πρωτεΐνη, που έχει 6 ισομορφές, Ob-Ra έως Ob-Rf, με πλήρως ενεργό υποδοχέα την ισομορφή Ob-Rb. Οι υποδοχείς της λεπτίνης βρίσκονται σε όλους σχεδόν τους ιστούς: στο κεντρικό νευρικό σύστημα, το πάγκρεας, το ήπαρ, τους νεφρούς, τους πνεύμονες, το ενδοθήλιο, το εντερικό επιθήλιο, τις γονάδες και σε κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος [548]. Σε μοριακό επίπεδο, η λεπτίνη δρα μέσω των υποδοχέων της για την ενεργοποίηση σημαντικών κινασών (JAK, STAT, PI3K, ERK1/2).

Η λεπτίνη σηματοδοτεί στον εγκέφαλο την παρουσία του σωματικού λίπους και οι κύριες δράσεις της είναι ο έλεγχος της όρεξης και του αισθήματος του κορεσμού και η μείωση της πρόσληψης τροφής μέσω του υποθαλάμου [549]. Διαμέσου αυτοκρινικών επιδράσεων επάγει τη λιπόλυση και αναστέλλει τη λιπογένεση, ενώ σε άτομα με φυσιολογικό βάρος βελτιώνει την ευαισθησία των περιφερικών ιστών στη δράση της ινσουλίνης [550]. Η λεπτίνη είναι επίσης απαραίτητη για τη φυσιολογική αναπαραγωγική διαδικασία. Συγκεκριμένα, συμβάλλει στην έναρξη της εφηβείας, σηματοδοτώντας την επάρκεια των ενεργειακών αποθεμάτων στον οργανισμό για πιθανή εγκυμοσύνη, ενώ τα χαμηλά της επίπεδα έχουν συσχετισθεί με αμηνόρροια [551].

Τα επίπεδα της λεπτίνης στο πλάσμα αυξάνονται ανάλογα με την αύξηση του BMI και του ποσοστού του σωματικού λίπους. Μάλιστα τα μεγάλα λιποκύτταρα παράγουν περισσότερη λεπτίνη από τα μικρότερα. Η έκκρισή της είναι αναλογικά μεγαλύτερη από το σπλαχνικό σε σύγκριση με τον υποδόριο λιπώδη ιστό και στις γυναίκες σε σύγκριση με τους άνδρες. Η νηστεία και η απώλεια βάρους μειώνουν θεαματικά τα επίπεδά της, ενώ η επανασίτιση οδηγεί σε επαναφορά στα αρχικά της επίπεδα. Η ινσουλίνη, τα οιστρογόνα και τα γλυκοκορτικοειδή προάγουν την έκφραση του γονιδίου της, ενώ τα ανδρογόνα, η αυξητική ορμόνη και η θεραπεία με γλιταζόνες έχουν το αντίθετο αποτέλεσμα. Επιπλέον, η ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος (π.χ. σε λοιμώξεις, φλεγμονές) αυξάνει

την παραγωγή της λεπτίνης διαμέσου της IL-1, του TNF-α και του λιποπολυσακχαριδίου [548].

Στην παχυσαρκία παρατηρούνται αυξημένα επίπεδα λεπτίνης, ένα γεγονός που υποδηλώνει αντίσταση στη δράση της, τουλάχιστον όσον αφορά τον έλεγχο της όρεξης [552]. Η λεπτίνη θεωρείται ένας από τους συνδετικούς κρίκους ανάμεσα στην παχυσαρκία και την αθηροσκλήρωση. Μάλιστα, τα επίπεδά της θεωρούνται ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για την εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου [553], ενώ η υπερλεπτιναμία έχει συσχετισθεί με στεφανιαία αθηροσκλήρωση σε ασθενείς με ΣΔ [554] και συνοδεύεται από αυξημένα επίπεδα ινσουλίνης στα παχύσαρκα άτομα [550].

Οι πιθανοί υποκείμενοι μηχανισμοί αφορούν την επίδραση της λεπτίνης κυρίως στο ανοσοποιητικό σύστημα. Συγκεκριμένα, η λεπτίνη προστατεύει τα T-λεμφοκύτταρα από την απόπτωση, προάγει τον πολλαπλασιασμό τους και τα ενεργοποιεί σε T-βοηθητικά 1 (Th-1) λεμφοκύτταρα. Επίσης, επάγει τον πολλαπλασιασμό και την ενεργοποίηση των μονοκυττάρων σε μακροφάγα, καθώς και την πρόσληψη χοληστερόλης από τα τελευταία. Ενισχύει την παραγωγή ελεύθερων ριζών και αυξάνει τον πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών και των λείων μυϊκών κυττάρων, ενώ αυξάνει τη συγκόλληση των αιμοπεταλίων. Τέλος, αυξάνει το συμπαθητικό τόνο και έχει ισχυρές αγγειογενετικές επιδράσεις, συμβάλλοντας με αυτό τον τρόπο στην παθοφυσιολογία της ΑΥ [555]. Συμπερασματικά, τα υψηλά επίπεδα λεπτίνης φαίνεται ότι συμβάλλουν στη διαταραχή του μεταβολισμού των υδατανθράκων/εμφάνιση ΣΔ2, την αύξηση της αρτηριακής πίεσης και την ενίσχυση της διαδικασίας της αθηροσκλήρωσης στα παχύσαρκα άτομα.

4.5 ΑΔΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ

Η αδιπονεκτίνη ανακαλύφθηκε από 4 ανεξάρτητες ερευνητικές ομάδες το 1990. Πρόκειται για ένα μονομερές πεπτίδιο 30 kDa που αποτελείται από μία ινώδη, κολλαγονοειδή και μία σφαιρική περιοχή. Το γονίδιο που κωδικοποιεί την παραγωγή της βρίσκεται στο χρωμόσωμα 3 [556]. Η αδιπονεκτίνη σχηματίζει τριμερή πριν εκκριθεί από το λιποκύτταρο, τα οποία συνενώνονται είτε σε εξαμερή είτε σε πολυμερή υψηλού μοριακού βάρους. Διαθέτει δύο διαμεμβρανικούς υποδοχείς με 7 αναδιπλώσεις, μέσω των οποίων δρα: τον Adipo-R1 και τον Adipo-R2. Ο Adipo-R1 βρίσκεται κυρίως στους σκελετικούς μύες, καθώς επίσης και στο ενδοθήλιο, το μυοκάρδιο και τα β-κύτταρα του παγκρέατος, ενώ ο Adipo-R2 εντοπίζεται κύριως στο ήπαρ και το ενδοθήλιο [556]. Οι κύριες ενδοκυττάρειες οδοί μεταβίβασης σήματος που ενεργοποιούνται κατά την πρόσδεση της

αδιπονεκτίνης με τον υποδοχέα της είναι η φωσφορυλίωση της AMP κινάσης για τον Adipo-R1 και η ενεργοποίηση των υποδοχέων PPAR- α για τον Adipo-R2 [557].

Η αδιπονεκτίνη είναι η πιο σημαντική αδιποκίνη που παράγεται από το λιπώδη ιστό. Τα επίπεδά της είναι ελαττωμένα σε άτομα που εμφανίζουν παχυσαρκία (ιδιαίτερα σπλαγχνική), αντίσταση στην ινσουλίνη και ΣΔ, ενώ είναι υψηλότερα στις γυναίκες σε σύγκριση με τους άντρες [556, 558, 559]. Τα επίπεδά της αυξάνονται με την απώλεια βάρους, μετά από χορήγηση ινσουλίνης ή γλιταζόνης και σε μικρότερο βαθμό από τη θεραπεία με φιμπράτες ή αυξητική ορμόνη. Αντίθετα, η πρόσληψη βάρους, τα γλυκοκορτικοειδή και ο TNF- α ελαττώνουν τα επίπεδά της [147].

Η αδιπονεκτίνη βελτιώνει την αντίσταση στην ινσουλίνη και εμφανίζει αντιαθηρογόνες ιδιότητες [560]. Επιδημιολογικές μελέτες έδειξαν ότι τα επίπεδά της και κάποιοι πολυμορφισμοί του γονιδίου της επηρεάζουν την εμφάνιση ή μη ΣΔ [561-563]. Επιπλέον, η μακροαγγειοπάθεια σε ασθενείς με ΣΔ συνοδεύεται από χαμηλά επίπεδα αδιπονεκτίνης [197]. Αντίθετα, τα υψηλά επίπεδα αδιπονεκτίνης έχουν συσχετισθεί με χαμηλότερο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου [564-566] και οι συσχετίσεις αυτές ήταν ανεξάρτητες από τους κλασικούς παράγοντες κινδύνου. Οι υψηλού μοριακού βάρους μορφές της αδιπονεκτίνης φαίνεται ότι είναι εκείνες που ευθύνονται για τη βελτίωση της ευαισθησίας στην ινσουλίνη, ενώ επίσης αυτές οι μορφές και ο λόγος τους προς την ολική αδιπονεκτίνη εμφανίζουν καλύτερη συσχέτιση με τη ΣΝ και τον ΣΔ σε σύγκριση με την ολική αδιπονεκτίνη [567, 568].

Οι αθηροπροστατευτικές ιδιότητες της αδιπονεκτίνης οφείλονται τόσο στις αντιδιαβητικές, όσο και στις πλειοτροπικές της δράσεις κυρίως στο ενδοθήλιο [556]. Συγκεκριμένα, η αδιπονεκτίνη αυξάνει το μονοξειδίο του αζώτου (NO), αναστέλλει την έκφραση των προσκολλητικών μορίων ICAM-1, VCAM-1 και E-σελεκτίνης από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, ελαττώνει τα επίπεδα του TNF- α , της IFN- γ και ορισμένων μεταλλοπρωτεϊνών και αυξάνει αυτά της IL-10 και του IL-1RA [565]. Όσον αφορά τον TNF- α , η αδιπονεκτίνη, όχι μόνο ελαττώνει την παραγωγή του από τα μακροφάγα, αλλά αναστέλλει και τις αθηρογόνες δράσεις του καταστέλλοντας τη σηματοδότηση του πυρηνικού υποδοχέα κ B (nuclear factor κ B; NF- κ B) [556]. Επιπλέον, ελαττώνει την έκφραση των υποδοχέων-περισυλλεκτών (scavenger receptors) των μακροφάγων, αναστέλλοντας το σχηματισμό αφρωδών κυττάρων [197]. Τέλος, η αδιπονεκτίνη μειώνει τη στρατολόγηση των T-λεμφοκυττάρων και την παραγωγή κυτταροκινών από τα μονοκύτταρα [556].

4.6 ΒΙΣΦΑΤΙΝΗ

Η βισφατίνη είναι μία πρωτεΐνη 52 kDa που παράγεται κυρίως από το σπλαχνικό λιπώδη ιστό. Το γονίδιο της, το οποίο βρίσκεται στο χρωμόσωμα 7 [569], κωδικοποιεί μία πρωτεΐνη που αποτελείται από 2 μονομερή, καθένα από τα οποία έχει πολλαπλές α-έλικες [570, 571]. Αν και μόλις το 2005 αναφέρθηκε για πρώτη φορά ως αδιποκίνη, η βισφατίνη ήταν ήδη γνωστή ως παράγοντας αύξησης των αποικιών των πρώιμων Β λεμφοκυττάρων (pre-beta colony enhancing factor; PBEF) [572]. Είναι ακόμη γνωστή ως φωσφοριβοσυλτρανσφεράση του νικοτιναμιδίου (namt), ως δηλαδή ένα ένζυμο που συμμετέχει στη βιοσύνθεση του νικοτιναμινοδινουκλεοτιδίου (NAD) από το νικοτιναμίδιο [570, 571]. Η βισφατίνη, εκτός από τα λεμφοκύτταρα, παράγεται επίσης από μεσαγγειακά και ενδοθηλιακά κύτταρα, μυοκύτταρα, λιποκύτταρα και μακροφάγα [573-575].

Ο ακριβής μηχανισμός δράσης της βισφατίνης δεν έχει εξακριβωθεί. Αρχικά πειράματα έδειξαν ότι συνδέεται και ενεργοποιεί τον υποδοχέα της ινσουλίνης σε διαφορετική θέση από την ινσουλίνη, ένα εύρημα το οποίο δεν επαληθεύτηκε στη συνέχεια. Οι περισσότεροι ερευνητές, στηριζόμενοι σε αρκετά πειραματικά δεδομένα, συμφωνούν ότι η βισφατίνη βελτιώνει την αντίσταση των περιφερικών ιστών στη δράση της ινσουλίνης [576, 577].

Συγκεκριμένα, η βισφατίνη επιτείνει την πρόσληψη γλυκόζης σε καλλιέργειες λιποκυττάρων ποντικού και ασθενών με σύνδρομο Simpson-Golabi-Behmel (SGBS), ενώ παρόμοια δράση έχει και σε μυοκύτταρα [578, 579]. Παράλληλα, ελαττώνει την έκκριση γλυκόζης από τα ηπατοκύτταρα και βελτιώνει τη λειτουργία των β-παγκρεατικών κυττάρων διαμέσου ενζυμικής δράσης. Επιπλέον, η βισφατίνη βελτιώνει την ινσουλινοευαισθησία σε ποντίκια που τρέφονται με δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε λίπος.

Αυτό που καθιστά τη βισφατίνη ιδιαίτερα ενδιαφέρουσα είναι ότι εμπλέκεται στη διαδικασία της φλεγμονής και της απόπτωσης [580]. Ο Moschen και συνεργάτες έδειξαν ότι η βισφατίνη επάγει σε μυοκύτταρα την έκκριση τόσο φλεγμονωδών κυτταροκινών, συγκεκριμένα των IL-1, IL-6, IL-10 και TNF-α, όσο και αντιφλεγμονωδών κυτταροκινών, όπως οι IL-10 και IL1-RA. Επιπλέον, αυξάνει την έκφραση των μεμβρανικών υποδοχέων των μονοκυττάρων και ενεργοποιεί τα T-λεμφοκύτταρα [578]. Στη συνέχεια, η αναστολή της δράσης της μειώνει τον TNF-α του πλάσματος σε ποντίκια με ενδοτοξιναιμία [581], ενώ η χορήγηση ενέσιμης ανασυνδυασμένης βισφατίνης αυξάνει σημαντικά τα επίπεδα της IL-6 [578]. Επιπρόσθετα, η βισφατίνη αναστέλλει την απόπτωση των ουδετερόφιλων [569] και των μακροφάγων [582] και αυξάνει την έκκριση προσταγλανδίνης E₂ (PGE₂) και

τη σύνθεση μεταλλοπρωτεΐναιών από μονοκύτταρα [583]. Σε ενδοθηλιακά κύτταρα αυξάνει την έκφραση προσκολλητικών μορίων συμβάλλοντας στη χημειοταξία των λευκοκυττάρων [584-586] και ενεργοποιεί μεταλλοπρωτεΐνάσες [586] και αγγειογενετικούς παράγοντες, όπως ο παράγοντας ανάπτυξης των ινοβλαστών 2 (fibroblast growth factor 2; FGF-2) και ο παράγοντας ανάπτυξης του αγγειακού ενδοθηλίου (vascular endothelial growth factor; VEGF) [586, 587]. Αξιοσημείωτη είναι η αύξηση των επιπέδων της βισφατίνης που έχει παρατηρηθεί σε αρκετές φλεγμονώδεις καταστάσεις, όπως η οξεία πνευμονοπάθεια, η χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια, η φλεγμονώδης νόσος του εντέρου, η ψωρίαση, η οστεοαρθρίτιδα και η ρευματοειδής αρθρίτιδα [588].

Αξίζει να αναφερθεί ότι σε μία ομάδα Αμερικάνων Ιαπωνικής καταγωγής παρατηρήθηκε συσχέτιση της βισφατίνης με τα επίπεδα της C- αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP) και της IL-6, αλλά όχι με τους δείκτες αντίστασης στην ινσουλίνη [589]. Επομένως, η βισφατίνη πιθανά συμμετέχει στη διαδικασία της αθηροσκλήρωσης περισσότερο διαμέσου της συσχέτισής της με τη φλεγμονή παρά διαμέσου της αντίστασης στην ινσουλίνη.

Σε εναρμόνιση με αυτή την υπόθεση είναι η συσχέτιση της βισφατίνης με την παθογένεση της ασταθούς αθηρωματικής πλάκας. Πιθανά η αυξημένη παραγωγή βισφατίνης από τα μακροφάγα αθηρωματικών βλαβών συμβάλλει στην αποσταθεροποίηση της πλάκας [583]. Πράγματι, μελέτες έδειξαν ότι η έκφραση του γονιδίου της βισφατίνης είναι σημαντικά αυξημένη στις καρωτιδικές πλάκες ατόμων με συμπτώματα καρωτιδικής στένωσης, όχι όμως και σε αυτές ασυμπτωματικών ατόμων [583]. Επίσης, η έκφραση της βισφατίνης σε ασταθείς αθηροσκληρωτικές πλάκες είναι αυξημένη σε συμπτωματικούς ασθενείς με ΣΝ, καθώς και σε ασθενείς με συμπτωματολογία αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου [583].

Όσον αφορά τα δεδομένα για τα επίπεδα της βισφατίνης σε παχύσαρκα άτομα ή σε ασθενείς με ΣΔ2 δεν υπάρχει ομοφωνία μεταξύ των ερευνητών [590]. Η ερευνητική μας ομάδα έδειξε ότι τα επίπεδα της βισφατίνης στον ορό είναι αυξημένα σε άτομα με μεταβολικό σύνδρομο σε σύγκριση με υγιή άτομα [591, 592]. Σε μια άλλη μελέτη σε ασθενείς με μεταβολικό σύνδρομο (N = 139) η συγκέντρωση της βισφατίνης στον ορό ήταν σημαντικά υψηλότερη στα άτομα που είχαν αθηρωματικές πλάκες στις καρωτίδες σε σύγκριση με τα άτομα που δεν είχαν αθηρωματικές πλάκες στις καρωτίδες [593]. Μάλιστα, η συγκέντρωση της βισφατίνης συσχετιζόταν ανεξάρτητα με το πάχος του έσω μέσου χιτώνα της αορτής [593].

Μία άλλη μελέτη έδειξε ότι η συγκέντρωση της βισφατίνης σε δείγματα από κοιλιακό και επικαρδιακό λιπώδη ιστό ήταν μεγαλύτερη σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε αορτοστεφανιαία παράκαμψη (N = 46) σε σύγκριση με ασθενείς χωρίς ΣΝ που υποβλήθηκαν σε άλλου τύπου εγχείρηση ανοικτής καρδιάς (N = 12) [594]. Επιπρόσθετα, στους ασθενείς με ΣΝ τα επίπεδα της βισφατίνης ήταν υψηλότερα στο κοιλιακό σε σύγκριση με το επικαρδιακό λίπος [594].

Σε μία μελέτη 253 ασθενών που υποβλήθηκαν σε στεφανιογραφία η συγκέντρωση της βισφατίνης ήταν μεγαλύτερη στους ασθενείς με σταθερή ΣΝ και οξύ στεφανιαίο σύνδρομο σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου [595]. Αξίζει να σημειωθεί ότι η συγκέντρωση της βισφατίνης συσχετίστηκε με τη σταθερή ΣΝ και τα οξέα στεφανιαία σύνδρομα ανεξάρτητα από τους καθιερωμένους παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου [595]. Επίσης, σε μία άλλη μελέτη στην οποία παρατηρήθηκε υψηλότερη συγκέντρωση βισφατίνης σε ασθενείς με σταθερή ΣΝ σε σύγκριση με υγιή άτομα, τα επίπεδα της βισφατίνης συσχετίστηκαν με την εμφάνιση ΣΝ ανεξάρτητα από άλλους παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση ΣΝ [596].

Η επίδραση των υπολιπιδαιμικών φαρμάκων στα επίπεδα της βισφατίνης δεν έχει διευκρινισθεί [590, 597-599]. Σε μία μελέτη η χορήγηση φαινοφιμπράτης για 3 μήνες σε 11 άνδρες με υπερτριγλυκεριδαιμία δεν προκάλεσε σημαντική μεταβολή των επιπέδων της βισφατίνης στο πλάσμα [600].

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η εκτίμηση της επίδρασης του rimonabant ως μονοθεραπεία και σε συνδυασμό με υπολιπιδαιμικά φάρμακα (φαινοφιμπράτη, εξετιμίμπη) στις ανθρωπομετρικές και μεταβολικές παραμέτρους του ορού, στο φαινότυπο των LDL και HDL σωματιδίων, καθώς και στις ενεργότητες ενζύμων που σχετίζονται με την αθηροσκλήρωση, σε υπέρβαρους και παχύσαρκους ασθενείς με δυσλιπιδαιμία.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

5.1 ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

5.1.1 Κριτήρια εισαγωγής στη μελέτη

Στη μελέτη συμμετείχαν ασθενείς ηλικίας >18 ετών με BMI = 27-40 kg/m² και αθηρογόνο δυσλιπιδαιμία (TG = 150-700 mg/dL και λόγος TC/HDL-C >5 στους άντρες και >4,5 στις γυναίκες) που προσήλθαν στο Εξωτερικό Ιατρείο Διαταραχών του Μεταβολισμού των Λιπιδίων, του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Ιωαννίνων, από τον Ιούνιο του 2007 ως και τον Οκτώβριο του 2008. Οι ασθενείς που συμμετείχαν στη μελέτη, αφού ενημερώθηκαν, έδωσαν γραπτή συγκατάθεση, ενώ το πρωτόκολλο της μελέτης εγκρίθηκε από την Επιστημονική Επιτροπή του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων.

5.1.2 Κριτήρια αποκλεισμού από τη μελέτη

Οι ασθενείς που συμμετείχαν στη μελέτη δεν είχαν ισχαιμική καρδιοπάθεια ή άλλη ένδειξη αγγειακής νόσου.

Από τη μελέτη αποκλείστηκαν ασθενείς με:

1. ΣΔ [γλυκόζη νηστείας ≥ 126 mg/dL σε ≥ 2 μετρήσεις ή παθολογική δοκιμασία ανοχής γλυκόζης (oral glucose tolerance test; OGTT)]
2. έκπτωση της νεφρικής λειτουργίας [κρεατινίνη ορού (serum creatinine; SCr) > 1.6 mg/dL ή/και εκτιμώμενος ρυθμός σπειραματικής διήθησης (estimated glomerular filtration rate; eGFR < 60 mL/min/1,73 m²)]
3. υποθυρεοειδισμό [thyroid-stimulating hormone (TSH) > 5 IU/mL]
4. διαταραχή της ηπατικής βιολογίας [τρανσαμινάσες (ασπαρτική αμινοτρανσφεράση, AST και ALT) > 3 φορές από τις ανώτερες φυσιολογικές τιμές (upper limit normal; ULN) σε ≥ 2 συναπτές μετρήσεις ή/και ιστορικό χρόνιας ηπατικής νόσου), καθώς και
5. γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας που δεν έπαιρναν μέτρα αντισύλληψης

Επιπλέον, αποκλείστηκαν από τη μελέτη ασθενείς που λάμβαναν υπολιπιδαιμική αγωγή ή την είχαν διακόψει για διάστημα < 4 εβδομάδων από την ένταξη στη μελέτη.

Ασθενείς που λάμβαναν αντιυπερτασική αγωγή σε σταθερή δοσολογία για τουλάχιστον 3 μήνες και η αρτηριακή τους πίεση ρυθμιζόταν ικανοποιητικά συμμετείχαν στη μελέτη, χωρίς να τροποποιηθεί η αγωγή καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης.

5.2 ΔΙΑΙΤΗΤΙΚΗ ΑΓΩΓΗ

Κατά την έναρξη της μελέτης ένας διαιτολόγος χορήγησε σε κάθε ασθενή μια υποθερμιδική δίαιτα (σύμφωνα με τις οδηγίες του NCEP ATP III), με βάση τις βασικές ενεργειακές ανάγκες και την εκτίμηση της σωματικής δραστηριότητας του κάθε ασθενή, η οποία απέδιδε 600 θερμίδες λιγότερες από τις ημερήσιες ανάγκες του.

Η συμμόρφωση των ασθενών στις διαιτητικές οδηγίες ελέγχονταν σε κάθε επίσκεψη με διεξοδική συζήτηση με το διαιτολόγο και ημερολόγια διατροφής. Ο ίδιος διαιτολόγος έδινε συμβουλές και οδηγίες που βασίζονταν στα διατροφικά ημερολόγια των ασθενών για τη βελτίωση της διατροφής τους.

5.3 ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ ΑΓΩΓΗ

Οι ασθενείς που πληρούσαν τα κριτήρια ένταξης στη μελέτη και συμμορφώθηκαν με τη δίαιτα για ένα μήνα τυχαιοποιήθηκαν σε αγωγή με: 1) rimonabant 20 mg/ημέρα (ομάδα R), 2) συνδυασμό rimonabant 20 mg/ημέρα με φαινοφιμπράτη 200 mg/ημέρα (ομάδα RF) ή 3) συνδυασμό rimonabant 20 mg/ημέρα με εξετιμίμπη (ezetimibe) 10 mg/ημέρα (ομάδα RE) με αναλογία 1:1:1.

5.4 ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Οι ανθρωπομετρικές και οι μεταβολικές παράμετροι εκτιμήθηκαν κατά την έναρξη της μελέτης και μετά από 3 μήνες θεραπείας.

5.5 ΣΥΜΜΟΡΦΩΣΗ ΣΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΚΑΙ ΑΝΕΠΙΘΥΜΗΤΕΣ ΕΝΕΡΓΕΙΕΣ

Για τον έλεγχο της συμμόρφωσης στη θεραπεία έγινε καταμέτρηση των δισκίων που έλαβε ο κάθε ασθενής. Λήψη <80% των δισκίων θεωρήθηκε ως ανεπαρκής συμμόρφωση στη θεραπεία. Τα δεδομένα των ασθενών με ανεπαρκή συμμόρφωση δεν συμπεριλήφθηκαν στην τελική ανάλυση. Επιπρόσθετα, καταγράφηκαν οι ανεπιθύμητες ενέργειες και διακόπηκε η θεραπεία στους ασθενείς στους οποίους μία ή περισσότερες ανεπιθύμητες ενέργειες (π.χ. γαστρεντερικές διαταραχές, καταθλιπτική συμπτωματολογία) επηρέαζαν τη συμμόρφωση στη θεραπεία. Οι διαταραχές του θυμικού εκτιμήθηκαν σε κάθε επίσκεψη με

το Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS). Όλες οι ανεπιθύμητες ενέργειες γνωστοποιήθηκαν στον Εθνικό Οργανισμό Φαρμάκων (Ε.Ο.Φ.) με τη συμπλήρωση της «κίτρινης κάρτας».

5.6 ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΚΑΙ ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ

Στην αρχική επίσκεψη καταγράφηκαν οι παράγοντες κινδύνου κάθε ασθενή για την εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου: συγκεκριμένα, η ηλικία, το κάπνισμα, το οικογενειακό ιστορικό πρώιμης καρδιαγγειακής νόσου και το ατομικό αναμνηστικό αρτηριακής υπέρτασης. Επιπρόσθετα, καταγράφηκαν τα φάρμακα που έπαιρνε ο κάθε ασθενής πριν από την τυχαιοποίηση στις επιμέρους ομάδες.

Σε κάθε επίσκεψη μετρήθηκαν το βάρος και το ύψος, με βάση τα οποία υπολογίστηκε ο BMI κάθε ασθενή, καθώς και η περίμετρος της μέσης με την τοποθέτηση μεζούρας περιμετρικά της κοιλιακής χώρας στο ύψος μεταξύ των κατώτερων πλευρών και της λαγόνιας ακρολοφίας. Η περίμετρος της μέσης μετρήθηκε σε όλες τις επισκέψεις από τον ίδιο ερευνητή. Τέλος, σε κάθε επίσκεψη μετρήθηκε η αρτηριακή πίεση (ΑΠ) σε καθιστή θέση (καταγράφηκε ο μέσος όρος 2 μετρήσεων με διαφορά 5 λεπτών μεταξύ των μετρήσεων).

5.7 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΒΑΣΙΚΩΝ ΒΙΟΧΗΜΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ

Τα δείγματα αίματος συλλέχθηκαν μετά από 12ωρη νηστεία (η πρόσληψη νερού επιτρεπόταν). Ο διαχωρισμός του ορού έγινε μετά από φυγοκέντρηση στις 3000 στροφές για 15 λεπτά και το δείγμα καταψύχθηκε στους -80°C .

Για τον προσδιορισμό της ουρίας του ορού χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της γλουταμικής αφυδρογονάσης, ενώ για τον προσδιορισμό των επιπέδων της SCr η τροποποιημένη μέθοδος Jaffe. Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης των ολικών λευκωμάτων και της αλβουμίνης του ορού έγινε με βάση τη μέθοδο Biuret και bromocresol green, αντίστοιχα.

Ο προσδιορισμός της γλυκόζης και των λιπιδαιμικών παραμέτρων του ορού έγινε σε αυτόματο αναλυτή OLYMPUS AU 640 (Olympus Diagnostica, Hamburg, Germany). Η γλυκόζη προσδιορίστηκε με τη μέθοδο της εξοκινάσης: παρουσία εξοκινάσης και τριφωσφορικής αδενοσίνης (adenosine triphosphate; ATP), η γλυκόζη μετατρέπεται αρχικά σε 6-P-γλυκόζη και στη συνέχεια παρουσία αφυδρογονάσης της 6-P-γλυκόζης και δινουκλεοτιδίου νικοτιναμιδίου-αδενίνης (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate; NADP^+) σε 6-P-γλυκονικό. Μετρήθηκε αύξηση της απορρόφησης στα 340 nm (NADH).

Η TC και τα TG του ορού προσδιορίστηκαν με ενζυμικές μεθόδους. Για τον προσδιορισμό της TC αρχικά το ποσοστό της χοληστερόλης που είναι εστεροποιημένο υδρολύεται σε ελεύθερη χοληστερόλη και λιπαρά οξέα και στη συνέχεια η TC μετατρέπεται σε χολεστερόνη και υπεροξειδίο, το οποίο μετριέται ποσοτικά με το σχηματισμό χρωμογόνου στα 510 nm. Για τη μέτρηση των TG γίνεται καταρχήν υδρόλυση τους σε γλυκερόλη και λιπαρά οξέα και στη συνέχεια ποσοτικός προσδιορισμός της γλυκερόλης σε τρία στάδια.

Ο προσδιορισμός της HDL-C στον ορό έγινε με ενζυμική μέθοδο, η οποία περιλαμβάνει δύο στάδια. Στο πρώτο στάδιο αντισώματα κατά των β-λιποπρωτεϊνών δεσμεύουν όλες τις άλλες λιποπρωτεΐνες εκτός της HDL (LDL, VLDL και χυλομικρά) και τις απενεργοποιούν ως προς τη δράση των ενζύμων που ακολουθούν. Στο δεύτερο στάδιο με την προσθήκη των ενζύμων εστεράση της χοληστερόλης και οξειδάση της χοληστερόλης προσδιορίζεται η χοληστερόλη της HDL με την μέθοδο που προαναφέρθηκε για την ολική χοληστερόλη.

Η τιμή της LDL-C υπολογίστηκε από την εξίσωση του Friedewald:

$$\text{LDL-C} = \text{TC} - (\text{HDL-C} + \text{TG}/5)$$

στα δείγματα τα οποία η συγκέντρωση των TG ήταν < 400 mg/dL. Αντίθετα, δεν προσδιορίστηκαν οι συγκεντρώσεις της LDL-C σε ασθενείς με επίπεδα TG > 400 mg/dL.

Ο προσδιορισμός των επιπέδων των απολιποπρωτεϊνών apoA1, apoB, καθώς και της Lp(a) στον ορό έγινε με ανοσονεφελομετρία σε νεφελόμετρο PROSPECT (Dade Behring, Liederbach, Germany) χρησιμοποιώντας ειδικά αντισώματα για κάθε απολιποπρωτεΐνη.

Η ινσουλίνη προσδιορίστηκε με ανοσοενζυμική μέθοδο με φθορίζον προϊόν, η οποία χρησιμοποιεί την τεχνική των μικροσωματιδίων (Microparticle Enzyme Immunoassay, ABBOTT GmbH Diagnostika, Wiesbaden-Delkenheim, Germany). Ο δείκτης HOMA-IR, ως δείκτης αντίστασης στην ινσουλίνη, υπολογίστηκε με βάση την παρακάτω εξίσωση:

$$\text{HOMA-IR} = \text{ινσουλίνη νηστείας (mU/L)} * \text{Glc νηστείας (mg/dL)} / 405$$

Τα επίπεδα της hs-CRP του ορού προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο N High Sensitivity CRP (Dade Behring Marburg, GmbH, Marburg, Γερμανία), με βάση την ενισχυμένη νεφελομετρία. Οι τιμές αναφοράς της μεθόδου είναι 0,175 – 55 mg/L.

Για τον έλεγχο της ακρίβειας και της αξιοπιστίας των μεθόδων προσδιορισμού της TC, των TG και της HDL-C (εσωτερικός ποιοτικός έλεγχος) χρησιμοποιήθηκαν οι οροί ελέγχου Decision[®] (Levels 1,2,3) της Beckman (Fullerton, CA), καθώς και το πρόγραμμα εξωτερικού ποιοτικού ελέγχου (Murex Clinical Chemistry Quality Assessment Programme).

5.8 ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΤΩΝ HDL ΑΠΟ ΠΛΗΡΕΣ ΠΛΑΣΜΑ

5.8.1 Αρχή της μεθόδου

Η μέθοδος βασίζεται στο γεγονός ότι το αντιδραστήριο καταβύθισης, το οποίο περιέχει θειική δεξτράνη και $MgCl_2$, σχηματίζει γρηγορότερα σύμπλοκα με τις λιποπρωτεΐνες που περιέχουν apoB σε σύγκριση με τις HDL.

5.8.2 Υλικά και όργανα

- Φυγόκεντρος πάγκου (1500 rpm)
- Αντιδραστήριο καταβύθισης (Sigma Diagnostics)

5.8.3 Πειραματική πορεία

500 μ L πλάσματος αναμιγνύονται με 50 μ L αντιδραστηρίου καταβύθισης. Το διάλυμα που προκύπτει αναδεύεται ισχυρά με vortex και αφού παραμένει για 5 min σε θερμοκρασία δωματίου φυγοκεντρείται σε φυγόκεντρο πάγκου για 5 min στις 1500 rpm. Η φυγοκέντρωση οδηγεί σε καταβύθιση των λιποπρωτεϊνών που περιέχουν apoB και έτσι οι HDL απομονώνονται στο υπερκείμενο, το οποίο αναρροφάται προσεκτικά με αυτόματη πιπέτα.

5.9 ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΥΠΟΚΛΑΣΜΑΤΩΝ ΤΩΝ LDL ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ LIPOPRINT LDL SYSTEM

5.9.1 Αρχή της μεθόδου

Η μέθοδος βασίζεται στην αρχή ότι τα λιποπρωτεϊνικά σωματίδια εμφανίζουν διαφορετική κινητικότητα κατά τη διάρκεια της ηλεκτροφόρησης με βάση το μέγεθός τους. Συγκεκριμένα, το Lipoprint LDL system περιλαμβάνει, μεταξύ άλλων, σωληνάρια γέλης (gel) πολυακρυλαμιδίου υψηλής ανάλυσης και loading gel σε υγρή μορφή που περιέχει λιπόφιλη χρωστική ουσία. Η χρωστική ουσία συνδέεται με τα λιποπρωτεϊνικά σωματίδια ανάλογα με τη συγκέντρωση της χοληστερόλης κάθε σωματιδίου. Τα λιποπρωτεϊνικά αυτά σωματίδια στη συνέχεια υποβάλλονται σε ηλεκτροφόρηση. Κατά την πρώτη φάση της ηλεκτροφόρησης, τα λιποπρωτεϊνικά σωματίδια συγκεντρώνονται σε μία λεπτή μπάντα στο άνω μέρος του φιαλιδίου. Στη συνέχεια, καθώς τα λιποπρωτεϊνικά σωματίδια μεταναστεύουν στο gel διαχωρισμού, διαχωρίζονται σε λιποπρωτεϊνικές μπάντες ανάλογα με το μέγεθος τους από το μεγαλύτερο στο μικρότερο.

5.9.2 Υλικά και όργανα

Κάθε kit των 100 δειγμάτων περιλαμβάνει:

- 100 Liporprint LDL σωληνάρια gel πολυακρυλαμιδίου (Quantimetrix Catalog No. 48-7002)
- 24 mL Liporprint LDL loading gel (Quantimetrix Catalog No. 48-7002)
- 6 φιαλίδια Liporprint LDL ρυθμιστικά άλατα [tris (hydroxymethyl) aminomethane, βορικό οξύ] (Quantimetrix Catalog No. 48-7002)]
- Απιονισμένο νερό

Το Liporprint System (Quantimetrix Catalog No. 48-9150) περιλαμβάνει:

- Υπολογιστή (περιλαμβάνει το λογισμικό Lipoware Analysis Program)
- Έγχρωμο εκτυπωτή
- Ψηφιακό σαρωτή
- Θάλαμο ηλεκτροφόρησης
- Τροφοδοτικό (120V/220V)
- Υποδοχή προετοιμασίας 12 θέσεων
- Πηγή φωτός

5.9.3 Πειραματική πορεία

25 μ L δείγματος (ορός ή πλάσμα) αναμειγνύεται με 200 μ L loading gel και τοποθετείται προσεκτικά με αυτόματη πιπέτα στο άνω μέρος του φιαλιδίου που περιέχει gel πολυακρυλαμιδίου 3%. Στη συνέχεια, τα δείγματα φωτοπολυμερίζονται για 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Μετά το πέρας του φωτοπολυμερισμού, τα σωληνάρια τοποθετούνται στο θάλαμο ηλεκτροφόρησης και η ηλεκτροφόρηση πραγματοποιείται για 60 λεπτά με ένταση ρεύματος 3 mA για κάθε σωληνάριο. Ο θάλαμος ηλεκτροφόρησης περιέχει 12 θέσεις ηλεκτροφόρησης. Κατά τη διάρκεια κάθε κύκλου τοποθετούνται, εκτός από τα δείγματα προς μέτρηση, δύο σωληνάρια με δείγμα που παρέχεται από τον κατασκευαστή για τον έλεγχο της ποιότητας. Για την ποσοτικοποίηση χρησιμοποιούνται ψηφιακό scanner (ScanMaker 8700, Mikrotek Co, USA) και υπολογιστής iMac (Apple Computer Inc, USA) με το κατάλληλο λογισμικό. Μετά το scanning, η ηλεκτροφορητική κινητικότητα (rate fractional; Rf) και η περιοχή κάτω από την καμπύλη (area under the curve; AUC) υπολογίζονται ποιοτικά και ποσοτικά με τη χρήση του Liporprint LDL system

Template και το λογισμικό Lipoware (Quantimetrix Co, Redondo Beach, CA), αντίστοιχα. Σύμφωνα με τη μέθοδο, οι VLDL παραμένουν στην αρχή ($R_f = 0$), ενώ οι HDL μεταναστεύουν μπροστά ($R_f=1$). Τα υποκλάσματα των LDL υπολογίζονται χρησιμοποιώντας την R_f μεταξύ του κλάσματος των VLDL και του κλάσματος των HDL. Τα διάφορα υποκλάσματα των LDL κατανέμονται σε 7 μπάντες με R_f από 0.32 μέχρι 0.64. Τα R_f των LDL υποκλασμάτων είναι 0.32, 0.38, 0.45, 0.51, 0.56, 0.60 και 0.64 (LDL1 έως LDL7, αντίστοιχα). Τα υποκλάσματα LDL1 και LDL2 ορίζονται ως μεγάλα, χαμηλής πυκνότητας LDL σωματίδια και τα υποκλάσματα LDL3 ως LDL7 ορίζονται ως sdLDL. Το περιεχόμενο σε χοληστερόλη κάθε LDL υποκλάσματος υπολογίζεται με πολλαπλασιασμό της AUC κάθε υποκλάσματος με τη συγκέντρωση της TC του δείγματος (η μέτρηση της συγκέντρωσης της TC του δείγματος γίνεται ανεξάρτητα). Το ποσοστό της χοληστερόλης των sdLDL (sdLDL-C %) ορίζεται ως το ποσοστό της LDL-C που βρίσκεται στα sdLDL σωματίδια (δηλαδή στις μπάντες 3 ως 7). Επιπρόσθετα, το Lipoprint LDL System παρέχει τη μέση διάμετρο των LDL σωματιδίων κάθε δείγματος σε nm και χρησιμοποιεί το όριο των 268 Å για το διαχωρισμό των ασθενών σε δύο φαινότυπους: φαινότυπος A (απουσία sdLDL σωματιδίων) και φαινότυπος non-A (παρουσία sdLDL σωματιδίων).

5.9.4 Σημειώσεις

Τα σωληνάρια gel πολυακρυλαμιδίου, τα loading gel και τα ρυθμιστικά διαλύματα αλάτων αποθηκεύονται στους 2-8°C και δεν καταψύχονται.

5.10 ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΥΠΟΚΛΑΣΜΑΤΩΝ ΤΩΝ HDL ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ LIPOPRINT HDL SYSTEM

5.10.1 Αρχή της μεθόδου

Η μέθοδος βασίζεται στην αρχή ότι τα λιποπρωτεϊνικά σωματίδια εμφανίζουν διαφορετική κινητικότητα κατά τη διάρκεια της ηλεκτροφόρησης με βάση το μέγεθός τους. Συγκεκριμένα, το Lipoprint HDL system περιλαμβάνει, μεταξύ άλλων, σωληνάρια gel πολυακρυλαμιδίου υψηλής ανάλυσης και loading gel σε υγρή μορφή που περιέχει λιπόφιλη χρωστική ουσία. Η χρωστική ουσία συνδέεται με τα λιποπρωτεϊνικά σωματίδια ανάλογα με τη συγκέντρωση της χοληστερόλης κάθε σωματιδίου. Τα λιποπρωτεϊνικά αυτά σωματίδια στη συνέχεια υποβάλλονται σε ηλεκτροφόρηση. Κατά την πρώτη φάση της ηλεκτροφόρησης, τα λιποπρωτεϊνικά σωματίδια συγκεντρώνονται σε μία λεπτή μπάντα

στο άνω μέρος του φιαλιδίου. Στη συνέχεια, καθώς τα λιποπρωτεϊνικά σωματίδια μεταναστεύουν στη γέλη διαχωρισμού, διαχωρίζονται σε λιποπρωτεϊνικές μπάντες ανάλογα με το μέγεθος τους, από το μεγαλύτερο στο μικρότερο.

5.10.2 Υλικά και όργανα

Κάθε kit των 100 δειγμάτων περιλαμβάνει:

- 100 Lipoprint HDL σωληνάρια gel πολυακρυλαμιδίου
- 24 mL Lipoprint HDL loading gel
- 6 φιαλίδια Lipoprint HDL ρυθμιστικά άλατα [tris (hydroxymethyl) aminomethane, βορικό οξύ] (Quantimetrix Catalog No. 48-7002)]
- Απιονισμένο νερό

Το Lipoprint System (Quantimetrix Catalog No. 48-9150) περιλαμβάνει:

- Υπολογιστή (περιλαμβάνει το λογισμικό Lipoware Analysis Program)
- Έγχρωμο εκτυπωτή
- Ψηφιακό σαρωτή
- Θάλαμο ηλεκτροφόρησης
- Τροφοδοτικό (120V/220V)
- Υποδοχή προετοιμασίας 12 θέσεων
- Πηγή φωτός

5.10.3 Πειραματική πορεία

25 μl δείγματος (ορός ή πλάσμα) αναμειγνύεται με 300 μl loading gel και τοποθετείται προσεκτικά με αυτόματη πιπέτα στο άνω μέρος του φιαλιδίου που περιέχει γέλη πολυακρυλαμιδίου 3%. Στη συνέχεια, τα δείγματα φωτοπολυμερίζονται για 30 min σε θερμοκρασία δωματίου. Μετά το πέρας του φωτοπολυμερισμού, τα σωληνάρια τοποθετούνται στο θάλαμο ηλεκτροφόρησης και η ηλεκτροφόρηση πραγματοποιείται για 50 min με ένταση ρεύματος 3 mA για κάθε σωληνάριο. Ο θάλαμος ηλεκτροφόρησης περιέχει 12 θέσεις ηλεκτροφόρησης. Για την ποσοτικοποίηση, χρησιμοποιείται ψηφιακό scanner (ScanMaker 8700, Mikrotek Co, USA) και προσωπικός υπολογιστής iMac (Apple Computer Inc, USA) με το κατάλληλο λογισμικό. Μετά το scanning, η ηλεκτροφορητική κινητικότητα (Rf, rate fractional) και η περιογή κάτω από την καμπύλη (area under the

curve, AUC) υπολογίζονται ποιοτικά και ποσοτικά με τη χρήση του Lipoprint HDL system Template και το λογισμικό Lipoware (Quantimetrix Co, Redondo Beach, CA), αντίστοιχα. Σύμφωνα με τη μέθοδο, οι VLDL και οι LDL παραμένουν στην αρχή ($R_f = 0$), ενώ η αλβουμίνη μεταναστεύει μπροστά ($R_f = 1$). Τα υποκλάσματα των HDL υπολογίζονται χρησιμοποιώντας το R_f μεταξύ του κλάσματος των VLDL και LDL και του κλάσματος της αλβουμίνης. Τα διάφορα υποκλάσματα των HDL κατανέμονται σε 9 μπάντες με R_f από 0,05 μέχρι R_f 0,53. Τα R_f των HDL υποκλασμάτων είναι 0,05, 0,10, 0,15, 0,20, 0,25, 0,29, 0,38, 0,48 και 0,53 (HDL1 έως HDL9, αντίστοιχα). Τα υποκλάσματα HDL1, HDL2, HDL3 ορίζονται ως μεγάλα, χαμηλής πυκνότητας HDL σωματίδια, τα υποκλάσματα HDL4, HDL5, HDL6 ως μέσης πυκνότητας HDL σωματίδια και τα υποκλάσματα HDL7, HDL8, HDL9 ορίζονται ως μικρά, υψηλής πυκνότητας HDL σωματίδια. Το περιεχόμενο σε χοληστερόλη κάθε HDL υποκλάσματος υπολογίζεται με πολλαπλασιασμό της AUC κάθε υποκλάσματος με τη συγκέντρωση της HDL-C του δείγματος (η μέτρηση της συγκέντρωσης της HDL-C του δείγματος γίνεται ανεξάρτητα).

5.10.4 Σημειώσεις

Τα σωληνάρια gel πολυακρυλαμιδίου, τα loading gel και τα ρυθμιστικά διαλύματα αλάτων αποθηκεύονται στους 2-8 °C και δεν πρέπει να καταψύχονται.

5.11 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ENZYΜΙΚΗΣ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ LpPLA₂

5.11.1 Αρχή της μεθόδου

Ο υπολογισμός της ενζυμικής ενεργότητας της LpPLA₂ βασίζεται στη μέτρηση των ραδιοσημασμένων οξικών ομάδων που απελευθερώνονται κατά την επίδραση του ενζύμου σε PAF, ο οποίος έχει προηγουμένως σημανθεί με ραδιενεργό τρίτιο στη θέση 2 του σκελετού της γλυκερόλης (³H-PAF). Οι οξικές ομάδες παραμένουν στο υπερκείμενο μετά την καταβύθιση με τριχλωροξικό οξύ (trichloroacetic acid; TCA) του παραγόμενου lyso-PAF, καθώς και του (³H-PAF) που δεν διασπάστηκε. Η β ακτινοβολία που εκπέμπουν μετριέται σε ειδικό μετρητή σπινθηρισμού. Τέλος, με τη βοήθεια ειδικών μαθηματικών τύπων οι μετρούμενες κρούσεις μετατρέπονται σε ενζυμική ενεργότητα, η οποία εκφράζεται ως ο αριθμός των nmoI του ραδιενεργού PAF που διασπάστηκαν από το ένζυμο στη μονάδα του χρόνου από μια συγκεκριμένη ποσότητα δείγματος.

5.11.2 Υλικά και όργανα

- PAF [(1-O-εξαδεκύλο-2-ακέτυλο-sn-γλύκερο-3-φωσφοχολίνη, MB: 523.7 g/mol), Sigma]. Τα 25 mg σκόνης διαλύονται σε 2.387 mL αιθανόλης 80% δίνοντας διάλυμα 20 mM το οποίο διατηρείται στους -20°C.
- (³H-PAF) [1-O-εξαδεκύλο-2-[³H]ακέτυλο-sn-γλύκερο-3-φωσφοχολίνη, 0.25 mCi/0.5 mL, 10 Ci/mmol), DuPont New England Nuclear, Boston, MA, USA].
- Υγρό σπινθηρισμού

5.11.3 Διαλύματα εργασίας

- Ρυθμιστικό διάλυμα Hepes, pH 7.4: παρασκευάζεται με την ανάμιξη 4.2 mM (1.0009 g/L) Hepes, 137 mM (8.0063 g/L) NaCl, 2.6 mM (0.1939 g/L) KCl και 2 mM (0.7445 g/L) EDTA. Το pH ρυθμίζεται με τη βοήθεια pHμέτρου στο 7.4 και το διάλυμα φυλάσσεται στους 4°C.
- BSA 2.5 mg/mL: 25 mg BSA διαλύονται σε 10 mL αποσταγμένου νερού. Το διάλυμα φυλάσσεται στους -20°C.
- BSA 100 mg/mL: 1 g BSA διαλύεται σε 10 mL αποσταγμένου νερού. Το διάλυμα φυλάσσεται στους -20°C.
- (³H-PAF) 100 μM. Σε πλαστικό σωληνάριο πολυπροπυλενίου αναμιγνύονται 100 μL PAF 20 μM και 30 μL (³H-PAF). Τα φωσφολιπίδια εξατμίζονται μέχρι ξηρού σε ρεύμα αζώτου και το διάλυμα αναδιασπείρεται σε 1 mL BSA 2.5 mg/mL. Το μίγμα αναδεύεται σε vortex και στη συνέχεια επωάζεται στους 37°C για 30 λεπτά. Το διάλυμα φυλάσσεται στους -20°C.
- TCA 20%: 20 g TCA διαλύονται σε 100 mL αποσταγμένου νερού. Το διάλυμα διατηρείται στους 4°C.

5.11.4 Πειραματική πορεία

Για τη μέτρηση της ενεργότητας της LpPLA₂ χρησιμοποιούνται συνήθως 50 μL πλάσματος ή απομονωμένης HDL (αραιωμένα 1/50 v/v και 1/3 v/v, αντίστοιχα, με Hepes pH 7.4). Για τη μέτρηση της ενζυμικής ενεργότητας των λιποπρωτεϊνικών υποκλασμάτων χρησιμοποιείται συνήθως τέτοιος όγκος δείγματος ώστε να περιέχει 4 μg πρωτεΐνης του υποκλάσματος. Σε κάθε περίπτωση τα δείγματα τοποθετούνται σε πλαστικό σωληνάκι eppendorf και ο όγκος συμπληρώνεται με Hepes pH 7.4 μέχρι τα 90 μL. Στη συνέχεια

προστίθενται 10 μL (^3H -PAF) 100 μM και τα δείγματα, αφού αναδευθούν ήπια, τοποθετούνται σε υδατόλουτρο όπου επωάζονται για 10 λεπτά στους 37°C. Στο τέλος αυτού του χρονικού διαστήματος η αντίδραση της LpPLA₂ με το υπόστρωμα τερματίζεται με την προσθήκη 20 μL BSA 100 mg/mL (η οποία δεσμεύει την περίσσεια του PAF που δεν αντέδρασε, καθώς και το lyso-PAF) και την τοποθέτηση των δειγμάτων, αφού αναδευθούν ισχυρά με vortex, σε πάγο για 15 λεπτά. Τέλος, αφού προστεθούν 80 μL TCA 20% τα δείγματα αναδεύονται πάλι με vortex και τοποθετούνται σε πάγο για άλλα 30 λεπτά. Στη συνέχεια τα σωληνάκια φυγοκεντρώνονται σε μικροφυγόκεντρο για erppendorfs (5 λεπτά στις 10.000 rpm) προκειμένου να καταβυθιστούν οι πρωτεΐνες. 100 μL από το υπερκείμενο που προκύπτει μετά την καταβύθιση τοποθετούνται σε ειδικό σωληνάκι μαζί με 2 mL υγρού σπινθηρισμού και αφού αναδευθούν ισχυρά μεταφέρονται στο μετρητή σπινθηρισμού για μέτρηση της β ακτινοβολίας που εκπέμπουν. Ίδια πειραματική διαδικασία με αυτή που ακολουθείται στα προς μέτρηση δείγματα εφαρμόζεται και για δύο σωληνάκια τα οποία περιέχουν 90 μL Hesper. Ο μέσος όρος των κρούσεων που αποδίδουν τα σωληνάκια αυτά αντιστοιχεί στο «τυφλό» (δείγμα ελέγχου) της μέτρησης και χρησιμοποιείται κατά τη μετατροπή των κρούσεων των δειγμάτων σε ενζυμική ενεργότητα. Επιπρόσθετα, μαζί με τα δείγματα τοποθετούνται στο μετρητή σπινθηρισμού και δύο σωληνάκια τα οποία περιέχουν υγρό σπινθηρισμού, καθώς και 10 μL (^3H -PAF) 100 μM . Το πηλίκο του μέσου όρου των κρούσεων που προέρχονται από αυτά τα σωληνάκια (standard) δια του αριθμού των nmol (^3H -PAF) 100 μM που περιέχονται στο καθένα αποτελούν την ειδική ενεργότητα (E.E) του διαλύματος του PAF, δηλαδή των αριθμό των κρούσεων που αποδίδει κάθε nmol (^3H -PAF) 100 μM στις συγκεκριμένες πειραματικές συνθήκες. Η ενεργότητα της Lp-PLA₂ εκφράζεται ως nmol του ραδιενεργού PAF που διασπάται στη μονάδα του χρόνου (min) από μία δεδομένη ποσότητα δείγματος και υπολογίζεται από τον παρακάτω γενικό τύπο:

$$\text{Ενεργότητα Lp-PLA}_2 = 2 * (\text{cpm}_\delta - \text{cpm}_\tau) * 1000 / \text{E.E} * \alpha * \beta$$

όπου: cpm_δ οι κρούσεις που αποδίδουν τα 100 μL κάθε δείγματος

cpm_τ οι κρούσεις που αποδίδουν τα 100 μL τυφλού

E.E η ειδική ενεργότητα του διαλύματος του (^3H -PAF) 100 μM (standard/10)

α ο χρόνος επώασης του δείγματος σε λεπτά και

β τα μL του πλάσματος και της HDL ή τα μg πρωτεΐνης των λιποπρωτεϊνικών υποκλασμάτων

5.12 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΩΝ ΠΑΡΑΟΞΟΝΑΣΗΣ ΚΑΙ ΑΡΥΛΕΣΤΕΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΕΝΖΥΜΟΥ ΠΑΡΑΟΞΟΝΑΣΗ 1 (PON1)

5.12.1 Αρχή της μεθόδου

Το παραοξόν και το φαινυλοξικό οξύ αποτελούν υποστρώματα της PON1. Η ενεργότητα της PON1 προσδιορίζεται έχοντας ως υπόστρωμα είτε το παραοξόν (ενεργότητα παραοξονάσης) είτε το φαινυλοξικό (ενεργότητα αρυλεστεράσης).

5.12.2 Αντιδραστήρια - Όργανα

- Μετρητής microELISA (SpectraMax 190, Molecular Devices)
- Παραοξόν (Διαιθυλ-π-νιτροφαινυλοφωσφορικό οξύ, Sigma)
- Φαινυλοξικό οξύ (Aldrich)
- Χλωριούχο ασβέστιο (CaCl_2 , Sigma)
- Tris-HCl (Τρίς-υδροξυμεθυλαμινομεθάνιο, Sigma)
- Πλακίδιο ELISA 96 θέσεων (Sarstedt)
- Πλακίδιο ELISA UV 96 θέσεων (Costar)
- Οκτακάναλη πολυπιπέτα μεταβαλλόμενου όγκου 20 – 200 μL (Costar)

5.12.3 Διαλύματα εργασίας

α) Ρυθμιστικό διάλυμα μέτρησης ενεργότητας PON1 έναντι παραοξόν (ενεργότητα παραοξονάσης): Περιέχει 100 mM Tris-HCl και 2 mM (2 mmol/L) CaCl_2 . Το pH του διαλύματος ρυθμίζεται στο 8.0. Το διάλυμα διατηρείται στους 4°C.

β) Ρυθμιστικό διάλυμα εργασίας παραοξονάσης: Το διάλυμα αυτό προκύπτει με την ανάμιξη κατάλληλου όγκου ρυθμιστικού διαλύματος μέτρησης ενεργότητας PON1 έναντι παραοξόν με αντίστοιχο όγκο παραοξόν ώστε η συγκέντρωσή του να είναι 6.11 mM.

γ) Ρυθμιστικό διάλυμα μέτρησης ενεργότητας PON1 έναντι φαινυλοξικού (ενεργότητα αρυλεστεράσης): Περιέχει 20 mM Tris-HCl και 2 mM (2 mmol/L) CaCl_2 . Το pH του διαλύματος ρυθμίζεται στο 8.0. Το διάλυμα διατηρείται στους 4°C.

δ) Ρυθμιστικό διάλυμα εργασίας αρυλεστεράσης: Το διάλυμα αυτό προκύπτει από την προσθήκη 1.6 μL φαινυλοξικού οξέος σε 10 mL ρυθμιστικού διαλύματος μέτρησης ενεργότητας PON1 έναντι φαινυλοξικού.

5.12.4 Πειραματική διαδικασία

Η ενεργότητα της PON1 προσδιορίζεται έχοντας ως υπόστρωμα είτε το παραοξόν (ενεργότητα παραοξονάσης) είτε το φαινυλοξικό οξύ (ενεργότητα αρυλεστεράσης). Ο ρυθμός υδρόλυσης του παραοξόν προκύπτει από την καταγραφή της αύξησης της απορρόφησης στα 412 nm, στους 25°C για 1.5 λεπτό στο φασματοφωτόμετρο. Ο τελικός όγκος στον οποίο γίνεται η μέτρηση είναι 250 μL τα οποία περιέχουν 25 μL δείγματος και 225 μL ρυθμιστικού διαλύματος εργασίας παραοξονάσης. Οι παραπάνω όγκοι μπορεί να μεταβληθούν, αυξάνοντας τον όγκο του δείγματος και μειώνοντας αντίστοιχα τον όγκο του ρυθμιστικού διαλύματος ώστε ο τελικός όγκος να παραμένει στα 250 μL . Η τελική συγκέντρωση του παραοξόν στο μίγμα της αντίδρασης είναι 5.5 mM. Στη συνέχεια υπολογίζεται η ποσότητα της π-νιτροφαινόλης που σχηματίστηκε χρησιμοποιώντας το συντελεστή μοριακής απόσβεσης $17.000 (\text{mol/L})^{-1} \text{cm}^{-1}$. Η ενεργότητα της παραοξονάσης εκφράζεται σε U/L ορού, ορίζοντας τη 1U (διεθνής μονάδα ενεργότητας) ως την ενεργότητα που καταλύει τον σχηματισμό 1 μmol π-νιτροφαινόλης που σχηματίζεται ανά λεπτό.

Η μέτρηση της ενεργότητας της αρυλεστεράσης γίνεται επίσης σε τελικό όγκο 250 μL , ο οποίος περιέχει 50 μL αραιωμένου δείγματος (1/100 v/v σε ρυθμιστικό διάλυμα αρυλεστεράσης) και 200 μL ρυθμιστικού διαλύματος εργασίας αρυλεστεράσης. Η τελική συγκέντρωση του φαινυλοξικού οξέος στο μίγμα της αντίδρασης είναι 1 mM. Ο ρυθμός υδρόλυσης του φαινυλοξικού προκύπτει από την καταγραφή της αύξησης της απορρόφησης στα 270 nm, στους 25°C για 1.5 λεπτό. Η ενεργότητα αρυλεστεράσης υπολογίζεται χρησιμοποιώντας το συντελεστή μοριακής απόσβεσης $1310 (\text{mol/L})^{-1} \text{cm}^{-1}$ και εκφράζεται σε U/mL, όπου 1U ορίζεται το 1 μmol του φαινυλοξικού που υδρολύεται στο λεπτό.

5.13 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΤΗΣ ΛΕΠΤΙΝΗΣ ΣΤΟ ΠΛΑΣΜΑ

5.13.1 Αρχή της μεθόδου

Ο προσδιορισμός της λεπτίνης έγινε με εμπορικό kit (Human leptin ELISA, Biovendor). Το πλάσμα και τα πρότυπα διαλύματα επωάζονται σε πλακίδια ELISA που περιέχουν

ακίνητοποιημένο ανθρώπινο πολυκλωνικό αντίσωμα ειδικό έναντι της λεπτίνης. Οποιαδήποτε ποσότητα λεπτίνης υπάρχει δεσμεύεται στο αντίσωμα, ενώ με διαδοχικές εκπλύσεις η λεπτίνη που δεν έχει δεσμευθεί απομακρύνεται. Ακολουθεί επώαση με πολυκλωνικό αντίσωμα έναντι της λεπτίνης συζευγμένο με υπεροξειδάση του χρένου. Η περίσσεια του αντισώματος απομακρύνεται και ακολουθεί η προσθήκη κατάλληλου υποστρώματος για την ανάπτυξη χρώματος. Η αντίδραση διακόπτεται με την προσθήκη οξέος και μετριέται η απορρόφηση στα 450 nm. Η ένταση του χρώματος που παρατηρείται είναι ανάλογη της συγκέντρωσης της λεπτίνης.

5.13.2 Υλικά (Human leptin ELISA, Biovendor)

- Πλακίδιο ELISA 96 θέσεων επικαλυμμένο με πολυκλωνικό αντίσωμα έναντι της λεπτίνης
- Πρότυπο διάλυμα πολυκλωνικού αντισώματος έναντι της λεπτίνης, επισημασμένο με ένζυμο (υπεροξειδάση του χρένου), 13 mL
- Πρότυπα λεπτίνης (1, 2, 5, 10, 20, 50 ng/mL) : 0,35 mL/φιαλίδιο
- Δύο φιαλίδια ανασυνδυασμένης ανθρώπινης λεπτίνης λυοφιλοποιημένης υψηλής και χαμηλής συγκέντρωσης αντίστοιχα (Quality control).
- Ρυθμιστικό διάλυμα αραιώσης (Dilution buffer) 13mL
- Διάλυμα έκπλυσης συμπυκνωμένο (5X) 100 mL
- Διάλυμα υποστρώματος (TMB) 13 mL
- Διάλυμα τερματισμού της αντίδρασης (0,2 M H₂SO₄), 13 mL

5.13.3 Πειραματική διαδικασία

1. Πριν από την έναρξη προσδιορισμού της λεπτίνης, όλα τα αντιδραστήρια και τα δείγματα που χρησιμοποιούνται πρέπει να βρίσκονται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.
2. Κάνουμε ανασύσταση κάθε φιαλιδίου του quality control με 0.35 mL απιονισμένου νερού, τα οποία στη συνέχεια αραιώνουμε 1:3 με ρυθμιστικό διάλυμα αραιώσης (π.χ. 100 μL Quality Control + 200 μL Dilution Buffer εις διπλούν).
3. Αραιώνουμε τα πρότυπα λεπτίνης και τα δείγματα προς μέτρηση 1:3 με ρυθμιστικό διάλυμα αραιώσης.
4. Στο πλακίδιο ELISA τοποθετούμε από 100 μL των προτύπων, των quality control και των δειγμάτων προς μέτρηση εις διπλούν και επωάζουμε το πλακίδιο για μία ώρα σε

θερμοκρασία δωματίου σε τροχιακό αναδευτήρα σε 300 rpm. Στη φάση αυτή η υπάρχουσα λεπτίνη δεσμεύεται από το αντίσωμα.

5. Απομακρύνουμε το υπερκείμενο και κάνουμε τρεις εκπλύσεις με την προσθήκη 350 μL αντιδραστηρίου έκπλυσης ανά θέση, ώστε να απομακρυνθεί η περίσσεια της λεπτίνης που δεν έχει δεσμευθεί.

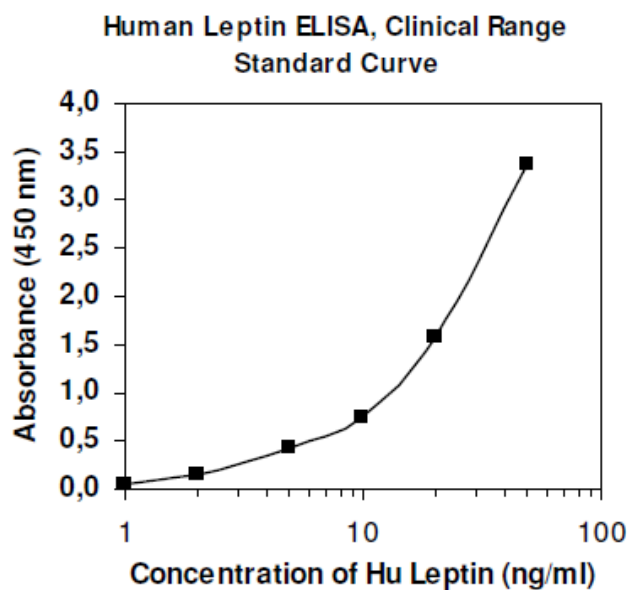
6. Προσθέτουμε 100 μL από το πολυκλωνικό αντίσωμα έναντι της λεπτίνης και επωάζουμε σε θερμοκρασία δωματίου για μία ώρα.

7. Κάνουμε τρεις εκπλύσεις με το αντιδραστήριο έκπλυσης για να απομακρυνθεί η περίσσεια του πολυκλωνικού αντισώματος που δεν έχει δεσμευθεί.

8. Προσθέτουμε 100 μL από το υπόστρωμα και επωάζουμε για 10 λεπτά απουσία φωτός. Στη φάση αυτή το χρώμα γίνεται σταδιακά μπλε.

9. Προσθέτουμε σε κάθε θέση 100 μL από το όξινο διάλυμα τερματισμού της αντίδρασης. Σε αυτή τη φάση το χρώμα μετατρέπεται άμεσα σε κίτρινο και παραμένει σταθερό για 10 λεπτά, εντός των οποίων πρέπει να γίνει η μέτρηση.

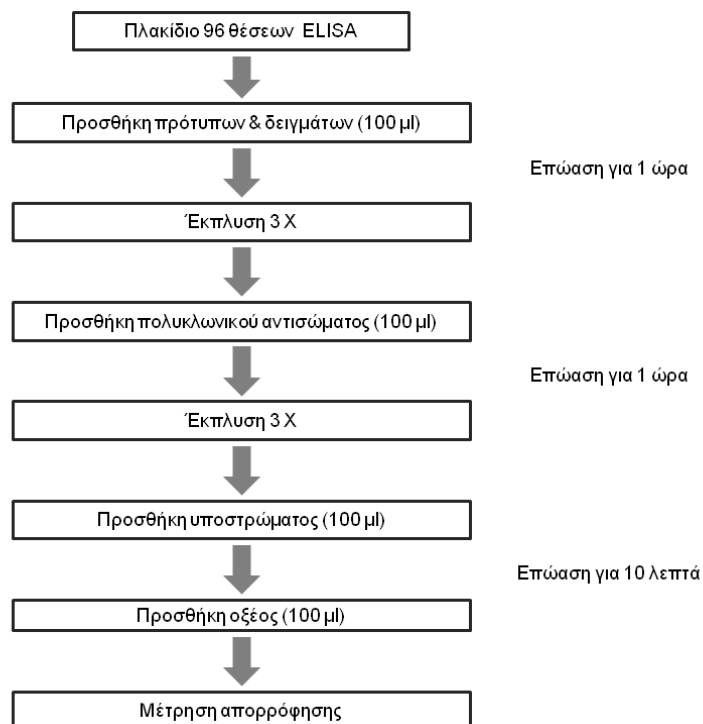
10. Προσδιορίζουμε την απορρόφηση στα 450 nm. Χρησιμοποιούμε την παρακάτω πρότυπη καμπύλη για την ανάλυση των αποτελεσμάτων.



Εικόνα 10. Η πρότυπη καμπύλη για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης της λεπτίνης

5.13.4 Σημειώσεις για τη μέθοδο

Με τη βοήθεια των πρότυπων διαλυμάτων κατασκευάζεται η πρότυπη καμπύλη, η οποία έχει τον οριζόντιο άξονα λογαριθμικό. Από την εξίσωση της ευθείας που προκύπτει υπολογίζεται η ποσότητα της λεπτίνης που περιέχουν τα δείγματα και τα αποτελέσματα εκφράζονται σε ng/mL.



Εικόνα 11. Σχηματική απεικόνιση της πειραματικής διαδικασίας προσδιορισμού της συγκέντρωσης της λεπτίνης στο πλάσμα

5.14 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΤΗΣ ΑΔΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗΣ ΣΤΟ ΠΛΑΣΜΑ

5.14.1 Αρχή της μεθόδου

Ο προσδιορισμός της αδιπονεκτίνης έγινε με εμπορικό kit (Human adiponectin ELISA, Biovendor). Το πλάσμα και τα πρότυπα διαλύματα επωάζονται σε πλακίδια ELISA που περιέχουν ακινητοποιημένο ανθρώπινο πολυκλωνικό αντίσωμα ειδικό έναντι της αδιπονεκτίνης. Οποιαδήποτε ποσότητα αδιπονεκτίνης υπάρχει δεσμεύεται στο αντίσωμα, ενώ με διαδοχικές εκπλύσεις η αδιπονεκτίνη που δεν έχει δεσμευθεί απομακρύνεται. Ακολουθεί επώαση με πολυκλωνικό αντίσωμα έναντι της αδιπονεκτίνης συζευγμένο με υπεροξειδάση του χρένου. Η περίσσεια του αντισώματος απομακρύνεται και ακολουθεί η προσθήκη κατάλληλου υποστρώματος για την ανάπτυξη χρώματος. Η αντίδραση διακόπτεται με την προσθήκη οξέος και μετριέται η απορρόφηση στα 450 nm. Η ένταση του χρώματος που παρατηρείται είναι ανάλογη της συγκέντρωσης αδιπονεκτίνης.

5.14.2 Υλικά (Human adiponectin ELISA, Biovendor)

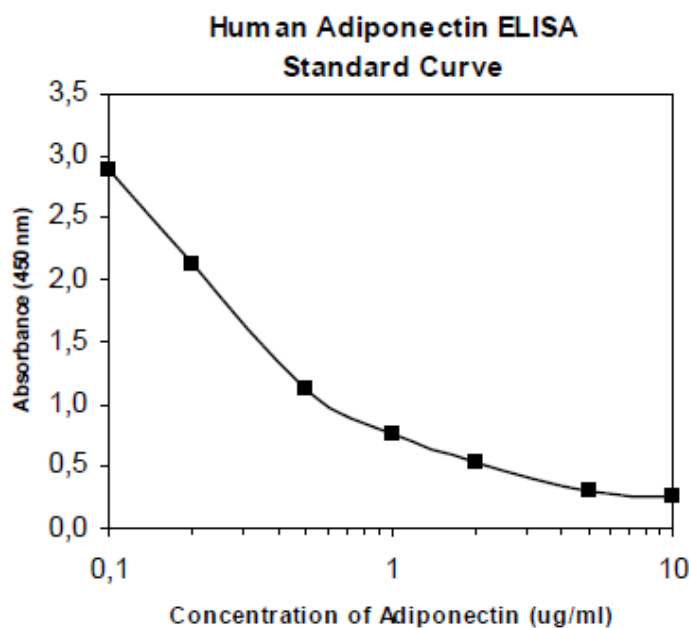
- Πλακίδιο ELISA 96 θέσεων επικαλυμμένο με ανασυνδυασμένη ανθρώπινη αδιπονεκτίνη
- Πρότυπο διάλυμα πολυκλωνικού αντισώματος έναντι αδιπονεκτίνης επισημασμένο με ένζυμο (υπεροξειδάση του χρένου), 7 mL
- Πρότυπα αδιπονεκτίνης (0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 5, 10 µg/mL) : 0,22 mL/φιαλίδιο
- Δύο φιαλίδια ανασυνδυασμένης ανθρώπινης αδιπονεκτίνης υψηλής και χαμηλής συγκέντρωσης, αντίστοιχα (Quality control): 2 x 0,1 mL.
- Ρυθμιστικό διάλυμα αραιώσης (Dilution buffer) 2 x 13 mL
- Διάλυμα έκπλυσης συμπυκνωμένο (5X) 100 mL
- Διάλυμα υποστρώματος (TMB) 2 x 13 mL
- Διάλυμα τερματισμού της αντίδρασης (0,5 M H₂SO₄), 9 mL

5.14.3 Πειραματική διαδικασία

1. Πριν από την έναρξη προσδιορισμού της αδιπονεκτίνης, όλα τα αντιδραστήρια και τα δείγματα που χρησιμοποιούνται πρέπει να βρίσκονται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.
2. Αραιώνουμε τα quality control 1:30 με ρυθμιστικό διάλυμα αραιώσης (π.χ. 10 µL Quality Control + 290 µL Dilution Buffer).
3. Αραιώνουμε τα πρότυπα αδιπονεκτίνης 1:3 και τα δείγματα προς μέτρηση 1:3 με ρυθμιστικό διάλυμα αραιώσης (π.χ. 50 µL δείγματος + 100 µL Dilution Buffer).
4. Στο πλακίδιο ELISA τοποθετούμε από 50 µL των προτύπων, των quality control και των δειγμάτων προς μέτρηση εις διπλούν.
5. Σε κάθε θέση προσθέτουμε 50 µL πολυκλωνικού αντισώματος έναντι της αδιπονεκτίνης επισημασμένου με ένζυμο και επωάζουμε το πλακίδιο για 2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου σε τροχιακό αναδευτήρα σε 300 rpm.
6. Απομακρύνουμε το υπερκείμενο και κάνουμε τρεις εκπλύσεις με την προσθήκη 350 µL αντιδραστηρίου έκπλυσης ανά θέση, ώστε να απομακρυνθεί η περίσσεια της αδιπονεκτίνης που δεν έχει δεσμευθεί.
7. Προσθέτουμε 200 µL από το υπόστρωμα και επωάζουμε για 15 λεπτά απουσία φωτός. Στη φάση αυτή το χρώμα γίνεται σταδιακά μπλε.

8. Προσθέτουμε σε κάθε θέση 50 μL από το όξινο διάλυμα τερματισμού της αντίδρασης. Σε αυτή τη φάση το χρώμα μετατρέπεται άμεσα σε κίτρινο και παραμένει σταθερό για 10 λεπτά, εντός των οποίων πρέπει να γίνει η μέτρηση.

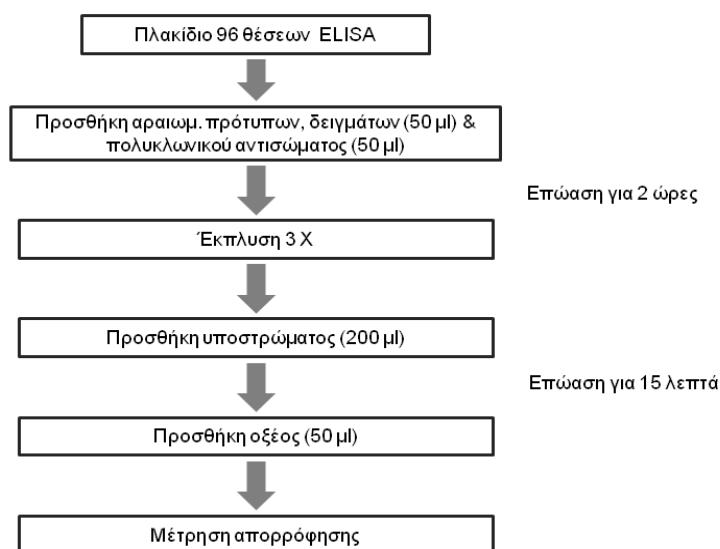
9. Προσδιορίζουμε την απορρόφηση στα 450 nm. Χρησιμοποιούμε την παρακάτω πρότυπη καμπύλη για την ανάλυση των αποτελεσμάτων.



Εικόνα 12. Η πρότυπη καμπύλη για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης της αδιπονεκτίνης

5.14.4 Σημειώσεις για τη μέθοδο

Με τη βοήθεια των πρότυπων διαλυμάτων κατασκευάζεται η πρότυπη καμπύλη, η οποία έχει τον οριζόντιο άξονα λογαριθμικό. Από την εξίσωση της ευθείας που προκύπτει υπολογίζεται η ποσότητα της αδιπονεκτίνης που περιέχουν τα δείγματα και τα αποτελέσματα εκφράζονται σε $\mu\text{g/mL}$.



Εικόνα 13. Σχηματική απεικόνιση της πειραματικής διαδικασίας προσδιορισμού της συγκέντρωσης της αδιπονεκτίνης στο πλάσμα

5.15 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΤΗΣ ΒΙΣΦΑΤΙΝΗΣ ΣΤΟ ΠΛΑΣΜΑ

5.15.1 Αρχή της μεθόδου

Ο προσδιορισμός της βισφατίνης έγινε με εμπορικό kit [Visfatin C-terminal (Human) - EIA Kit, Phoenix Pharmaceuticals, catalogue number EK-003-80]. Το πλάσμα και τα πρότυπα διαλύματα επωάζονται σε πλακίδια ELISA που περιέχουν ακινητοποιημένο ανθρώπινο πολυκλωνικό αντίσωμα έναντι της βισφατίνης. Η βισφατίνη δεσμεύεται στο αντίσωμα και ακολουθεί επώαση με πολυκλωνικό αντίσωμα έναντι της βισφατίνης συζευγμένο με υπεροξειδάση του χρένου (horseradish peroxidase). Στη συνέχεια προστίθεται κατάλληλο υπόστρωμα για την ανάπτυξη χρώματος. Η αντίδραση διακόπτεται με την προσθήκη οξέος και μετρείται η απορρόφηση στα 450 nm. Η ένταση του χρώματος που παρατηρείται είναι ανάλογη της συγκέντρωσης της βισφατίνης.

5.15.2 Υλικά [Visfatin C-terminal (Human) - EIA Kit, Phoenix Pharmaceuticals, catalogue number EK-003-80]

- Πλακίδιο ELISA 96 θέσεων
- Συμπυκνωμένο buffer 20χ

- Μεμβράνη επικάλυψης του πλακιδίου
- Συμπυκνωμένο κύριο αντίσωμα
- Πρότυπο πεπτίδιο
- Θετικό διάλυμα ελέγχου
- Συμπυκνωμένο διάλυμα πεπτιδίου
- Υπεροξειδάση του χρένου
- Διάλυμα υποστρώματος
- 2N HCl (15 mL)

5.15.3 Πειραματική διαδικασία

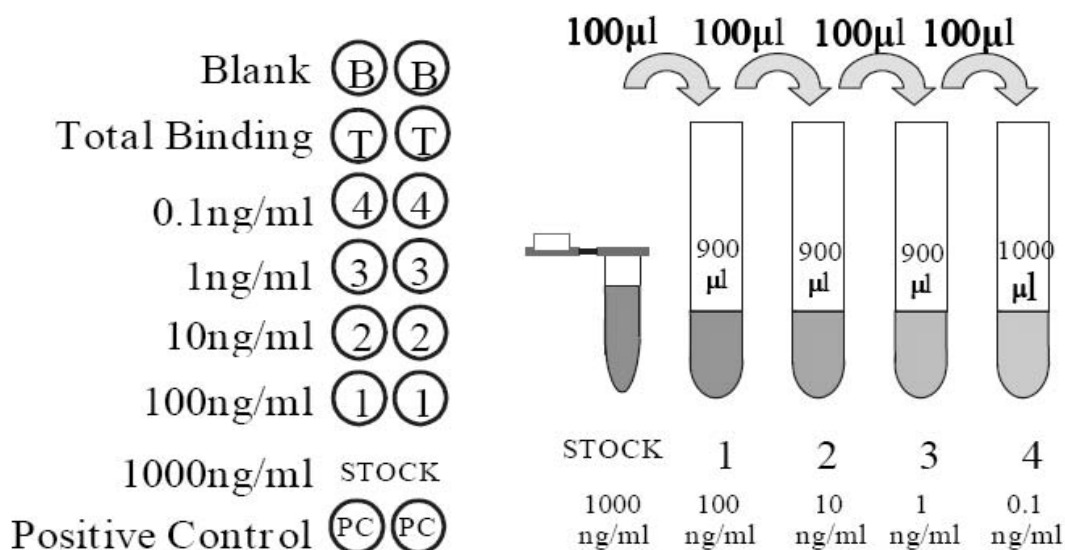
1. Πριν από την έναρξη προσδιορισμού της βισφατίνης, όλα τα αντιδραστήρια και τα δείγματα που χρησιμοποιούνται πρέπει να βρίσκονται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

2. Αραιώνουμε το συμπυκνωμένο buffer 20χ με 950 mL απιονισμένου νερού (τελική συγκέντρωση 1χ). Το τελικό Buffer 1χ θα χρησιμοποιηθεί στη συνέχεια για την αραιώση όλων των άλλων διαλυμάτων.

3. Αραιώνουμε το πρότυπο πεπτίδιο με 1 mL Buffer 1χ (vortex). Η τελική συγκέντρωση είναι 1000 ng/mL. Το διάλυμα πρέπει να αφεθεί σε θερμοκρασία δωματίου τουλάχιστον για 10 min. Γίνεται στη συνέχεια φυγοκέντρηση (vortex) αμέσως πριν τη χρήση.

4. Προετοιμάζουμε τα διαλύματα του πρότυπου πεπτιδίου για την πρότυπη καμπύλη:

Standard No.		Std. Volume 1x Assay	Buffer Concentrations
Stock		1000 µL	1,000 ng/mL
#1	100 µL of Stock	900 µL	100 ng/mL
#2	100 µL of #1	900 µL	10 ng/mL
#3	100 µL of #2	900 µL	1 ng/mL
#4	100 µL of #3	900 µL	0.1 ng/mL



Εικόνα 14. Σχηματική απεικόνιση της παρασκευής των πρότυπων διαλυμάτων και της διάταξης στα wells του πλακιδίου.

5. Πλένουμε το πλακίδιο με 300 μL/well Buffer 1χ. Αφήνουμε το buffer τουλάχιστον για 5 min και έπειτα το αφαιρούμε χτυπώντας το πλακίδιο σε στεγνή επιφάνεια. Προχωράμε στο επόμενο βήμα πριν στεγνώσει το πλακίδιο.

6. Αφού φυγοκεντρήσουμε, κάνουμε ανασύσταση του θετικού διαλύματος ελέγχου με 200 μL Buffer 1χ. Αφήνουμε το διάλυμα για 5 λεπτά και το ανακινούμε έντονα πριν τη χρήση.

7. Αφήνουμε 2 wells άδεια (blank).

8. Προσθέτουμε 50 μL Buffer 1χ στα wells B1-B2 (total binding).

9. Προσθέτουμε 50 μL των πρότυπων διαλυμάτων σε αντίστροφη σειρά (από το #4 στο stock, εικόνα 14).

10. Προσθέτουμε 50 μL από το ανασυσταμένο θετικό διάλυμα ελέγχου στα wells H1 και H2.

11. Προσθέτουμε 50 μL ορού στα προκαθορισμένα wells.

12. Προχωρούμε σε ανασύσταση του συμπυκνωμένου κυρίου αντισώματος με 100 μL Buffer 1χ. Στη συνέχεια φτιάχνουμε το διάλυμα εργασίας του κυρίου αντισώματος, δηλαδή προσθέτουμε 100 μL του ανασυσταμένου κυρίου αντισώματος σε 2.5 mL Buffer

1χ (αραίωση 1/25). Προσθέτουμε 25 μL από αυτό το διάλυμα εργασίας σε όλα τα wells εκτός από το Blank.

13. Προχωρούμε σε ανασύσταση του συμπυκνωμένου διαλύματος πεπτιδίου με 100 μL Buffer 1χ. Στη συνέχεια φτιάχνουμε το διάλυμα εργασίας του διαλύματος πεπτιδίου, δηλαδή προσθέτουμε 100 μL του ανασυσταμένου κυρίου αντισώματος σε 2.5 mL Buffer 1χ (αραίωση 1/25). Προσθέτουμε 25 μL από αυτό το διάλυμα εργασίας σε όλα τα wells εκτός από το Blank.

14. Καλύπτουμε το πλακίδιο με τη μεμβράνη επικάλυψης και το επωάζουμε σε θερμοκρασία δωματίου για 2 ώρες. Συνιστάται συνεχής ανακίνηση του πλακιδίου με ρυθμό 300-400 rpm.

15. Φυγοκεντρούμε την υπεροξειδάση του χρένου (3000-5000 rpm, 5 sec). Προσθέτουμε με πιπέτα 12 μL σε 12 mL Buffer 1χ, με αποτέλεσμα τη δημιουργία του διαλύματος υπεροξειδάσης του χρένου. Ανακινούμε έντονα με το vortex.

16. Αφαιρούμε την προστατευτική μεμβράνη και το περιεχόμενο των wells.

17. Πλένουμε κάθε well με 350 μL Buffer 1χ και το αφαιρούμε χτυπώντας το πλακίδιο σε στεγνή επιφάνεια. Επαναλαμβάνουμε 4 φορές.

18. Προσθέτουμε 100 μL διαλύματος υπεροξειδάσης του χρένου σε κάθε well.

19. Καλύπτουμε το πλακίδιο με τη μεμβράνη επικάλυψης και το επωάζουμε σε θερμοκρασία δωματίου για 1 ώρα. Συνιστάται συνεχής ανακίνηση του πλακιδίου με ρυθμό 300-400 rpm.

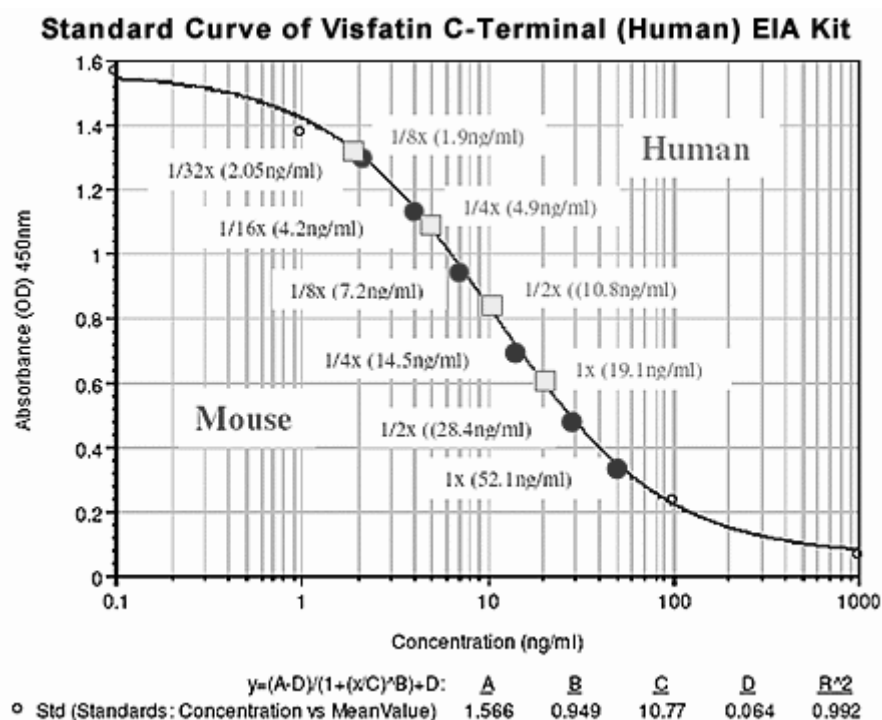
20. Πλένουμε κάθε well με 350 μL Buffer 1χ και το αφαιρούμε χτυπώντας το πλακίδιο σε στεγνή επιφάνεια. Επαναλαμβάνουμε 4 φορές.

21. Προσθέτουμε 100 μL διαλύματος υποστρώματος σε κάθε well.

22. Καλύπτουμε αμέσως το πλακίδιο με τη μεμβράνη επικάλυψης και το επωάζουμε σε θερμοκρασία δωματίου για 1 ώρα. Συνιστάται συνεχής ανακίνηση του πλακιδίου με ρυθμό 300-400 rpm.

23. Προσθέτουμε 100 μL 2N HCl σε κάθε well για να διακόψουμε την αντίδραση. Το χρώμα πρέπει να αλλάξει από μπλε σε κίτρινο. Προχωράμε στο επόμενο βήμα μέσα σε 20 min.

24. Προσδιορίζουμε την απορρόφηση στα 450 nm. Χρησιμοποιούμε την εξίσωση log-logit για την ανάλυση των αποτελεσμάτων.



Εικόνα 15. Η πρότυπη καμπύλη για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης της βισφατίνης

5.15.4 Σημειώσεις για τη μέθοδο

1. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί ορός ή πλάσμα.
2. Τα υλικά του kit πρέπει να αποθηκεύονται σε θερμοκρασία 4 °C.

5.16 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Οι παράμετροι που μελετήθηκαν εκφράζονται ως μέση τιμή ± σταθερά απόκλισης (SD), εφόσον ακολουθούσαν κανονική κατανομή (Gaussian distribution), καθώς και ως διάμεση τιμή (εύρος), εφόσον δεν ακολουθούσαν κανονική κατανομή (non-Gaussian distribution). Το τεστ Kolmogorov-Smirnov χρησιμοποιήθηκε για τον έλεγχο της κανονικότητας των κατανομών. Οι μεταβολές των επιπέδων των διαφόρων παραμέτρων μετά από 3 μήνες θεραπείας εκτιμήθηκαν με τη χρήση του paired-samples t-test για τις παραμέτρους που ακολουθούσαν κανονική κατανομή και με τη χρήση του Wilcoxon's rank test για μεταβλητές που δεν ακολουθούσαν κανονική κατανομή. Η σύγκριση μεταξύ των τριών θεραπευτικών σχημάτων διενεργήθηκε με τη χρησιμοποίηση της ανάλυσης της μεταβλητότητας σε μία διεύθυνση (one-way analysis of variance; ANOVA), η οποία συνοδεύεται από τη δοκιμασία των ελαχίστων διαφορών (least significance differences

test; LSD test), για τις κανονικές μεταβλητές και με τη δοκιμασία Kruskal-Wallis για τις μη-κανονικές μεταβλητές. Για την εκτίμηση της συσχέτισης μεταξύ μιας εξαρτημένης μεταβλητής και μιας ομάδας ανεξάρτητων παραμέτρων (ή προγνωστικών δεικτών, predictors) χρησιμοποιήθηκε η πολλαπλή γραμμική παλινδρόμηση. Η δοκιμασία χ^2 χρησιμοποιήθηκε για τη σύγκριση των ποσοστών. Οι συσχετίσεις μεταξύ των μεταβλητών της μελέτης εκτιμήθηκαν με τη χρησιμοποίηση του Pearson product-moment correlation coefficient (r) ή του Spearman's rank order correlation (ρ) για τις κανονικές και μη-κανονικές μεταβλητές, αντίστοιχα. Τα αποτελέσματα αναλύθηκαν χωρίς να συμπεριληφθούν οι ασθενείς που δεν ολοκλήρωσαν τη μελέτη. Ως όριο στατιστικής σημαντικότητας θεωρήθηκε το $p < 0.05$. Το στατιστικό πρόγραμμα Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 16.0 (SPSS Inc.) χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση των αποτελεσμάτων.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

6.1 Δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού της μελέτης

Στη μελέτη συμμετείχαν 60 ασθενείς (19 άνδρες, 41 γυναίκες) με μέση ηλικία 52 ± 11 έτη. Από αυτούς τους ασθενείς οι 4 δεν ολοκλήρωσαν τη μελέτη. Από τους υπόλοιπους 56 ασθενείς, οι 18 συμμετείχαν στην ομάδα του rimonabant (R) και από 19 στις ομάδες rimonabant/φαινοφιμπράτης (RF) και rimonabant/εξετιμίμπης (RE). Όπως φαίνεται στον πίνακα 4, οι ασθενείς στις 3 ομάδες θεραπείας δεν εμφάνιζαν διαφορές όσον αφορά την ηλικία, το φύλο, τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά ή τη φαρμακευτική αγωγή που λάμβαναν κατά την έναρξή τους στη μελέτη.

Πίνακας 4. Χαρακτηριστικά των ασθενών στην έναρξη της μελέτης (δεν συμπεριλαμβάνονται οι 4 ασθενείς που δεν ολοκλήρωσαν τη μελέτη)

Χαρακτηριστικό	Ομάδα R	Ομάδα RF	Ομάδα RE	p
N (γυναίκες / άνδρες)	18 (13/5)	19 (12/7)	19 (13/6)	NS
Ηλικία, έτη	50.5±14.1	49.3±4.1	52.0±12.1	NS
Καπνιστές, %	33	34	33	NS
Σωματικό βάρος, kg	87.1±25.9	89.3±15.0	86.2±15.3	NS
BMI, kg/m ²	31.8±6.8	33.1±4.8	33.4±5.0	NS
Περίμετρος μέσης, cm	109.5±19.1	105.7±7.0	110.1±12.8	NS
Συστολική ΑΠ, mm Hg	135.0±9.7	132.8±11.3	131.4±12.6	NS
Διαστολική ΑΠ, mmHg	82.5±9.2	91.2±8.0	84.0±9.5	NS
Φαρμακευτική αγωγή				
Ασπιρίνη (%)	0	0	0	NS
β-αποκλειστές (%)	23	22	24	NS
Θειαζιδικά διουρητικά (%)	33	27	30	NS
ACEIs/ARBs (%)	33	30	28	NS

Οι τιμές εκφράζονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση (standard deviation; SD)

ACEIs: angiotensin converting enzyme inhibitors (αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης), ARBs: angiotensin receptor blockers (αναστολείς των υποδοχέων της αγγειοτενσίνης), NS: non-significant (μη στατιστικά σημαντικό)

6.2 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΤΟΥΣ 3 ΜΗΝΕΣ

6.2.1 Ανθρωπομετρικές παράμετροι και ΑΠ

Παρατηρήθηκαν σημαντικές παρόμοιες μειώσεις του ΣΒ, του BMI, της περιμέτρου μέσης, καθώς και της συστολικής και διαστολικής ΑΠ και στις 3 ομάδες μετά από 3 μήνες θεραπείας (Πίνακας 5). Δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές στις μεταβολές των παραπάνω παραμέτρων μεταξύ των τριών ομάδων.

Πίνακας 5. Ανθρωπομετρικές παράμετροι και ΑΠ κατά την έναρξη της μελέτης και μετά από 3 μήνες θεραπείας

	Έναρξη	3 μήνες	Μεταβολή, %
Βάρος σώματος (kg)			
Ομάδα R	87.1±25.9	80.9±25.0	-7.0 [†]
Ομάδα RF	89.3±15.0	85.2±17.3	-4.6 [†]
Ομάδα RE	86.2±15.3	80.5±14.0	-6.6 [†]
BMI (kg/m²)			
Ομάδα R	31.8±6.8	29.7±6.4	-7.0 ^{††}
Ομάδα RF	33.1±4.8	31.5±5.4	-4.8 ^{††}
Ομάδα RE	33.4±5.0	31.2±4.9	-6.6 ^{††}
Περίμετρος μέσης (cm)			
Ομάδα R	109.5±19.1	102.1±20.4	-6.8 [†]
Ομάδα RF	105.7±7.0	98.3±10.2	-7.0 [†]
Ομάδα RE	110.1±12.8	102.3±11.5	-7.1 [†]
Συστολική ΑΠ (mmHg)			
Ομάδα R	135.0±9.7	123.5±8.8	-8.5 [†]
Ομάδα RF	132.8±11.3	125±14.1	-6 [†]
Ομάδα RE	131.4±12.6	124.4±21.1	-5.3 [†]
Διαστολική ΑΠ (mmHg)			
Ομάδα R	82.5±9.2	76.8±10.5	-6.8 [†]
Ομάδα RF	91.2±8.0	85.8±9.3	-6 [†]
Ομάδα RE	84.0±9.5	78.0±15.3	-6.6 [†]

Οι τιμές εκφράζονται ως μέση τιμή ± SD

BMI: body mass index (δείκτης μάζας σώματος)

[†]p<0.05 σε σύγκριση με τα αρχικά επίπεδα

^{††}p<0.005 σε σύγκριση με τα αρχικά επίπεδα

6.2.2 Παράμετροι του μεταβολισμού των λιπιδίων

Σημαντικές μειώσεις στα επίπεδα της TC, της non-HDL-C, των TG και του λόγου TC/HDL-C παρατηρήθηκαν σε όλες τις ομάδες σε σύγκριση με τα αρχικά επίπεδα. Η ελάττωση των TG και του λόγου TC/HDL-C ήταν σημαντικά μεγαλύτερη στην ομάδα RF (-46,5% και -28,3%, αντίστοιχα, $p < 0.05$ έναντι των άλλων δύο ομάδων και για τις δύο μεταβολές), ενώ η μείωση της non-HDL-C ήταν σημαντικά μεγαλύτερη στις δύο ομάδες στις οποίες χρησιμοποιήθηκαν συνδυασμοί φαρμάκων έναντι της ομάδας της μονοθεραπείας (-22,1% και -16,4% στις ομάδες RF και RE, αντίστοιχα, $p < 0.05$ για τη σύγκριση μεταξύ των ομάδων στις οποίες χρησιμοποιήθηκαν συνδυασμοί φαρμάκων και της ομάδας R) (Πίνακας 6).

Τα επίπεδα της LDL-C και της apoB ελαττώθηκαν σημαντικά σε σύγκριση με τα αρχικά επίπεδα στις ομάδες RF (-14,4% και -24,3%, αντίστοιχα, $p < 0.05$ και για τις δύο μεταβολές) και RE (-21%, $p < 0.005$ και -18,9%, $p < 0.05$), ενώ εμφάνισαν μια μη στατιστικά σημαντική μείωση της τάξης του 5,8% και 8,3%, αντίστοιχα στην ομάδα της μονοθεραπείας (Πίνακας 6). Όλες οι παραπάνω μεταβολές ήταν σημαντικά μεγαλύτερες στις δύο ομάδες στις οποίες χρησιμοποιήθηκαν συνδυασμοί φαρμάκων έναντι της ομάδας της μονοθεραπείας ($p < 0.05$ για τη σύγκριση μεταξύ των ομάδων στις οποίες χρησιμοποιήθηκαν συνδυασμοί φαρμάκων και της ομάδας R).

Η συγκέντρωση της HDL-C αυξήθηκε στις ομάδες R (+6,3%, $p < 0.05$ σε σύγκριση με τα αρχικά επίπεδα) και RF (+25,4%, $p < 0.005$ σε σύγκριση με τα αρχικά επίπεδα), με την αύξηση αυτή να είναι σημαντικά μεγαλύτερη στην ομάδα RF ($p < 0.05$ έναντι των άλλων δύο ομάδων), ενώ δεν παρουσίασε σημαντική μεταβολή στην ομάδα RE. Ωστόσο, τα επίπεδα της ApoA1 αυξήθηκαν μόνο στην ομάδα RF (+22,5%, $p < 0.05$ σε σύγκριση με τα αρχικά επίπεδα και έναντι των άλλων δύο ομάδων) (Πίνακας 6).

Τέλος, δεν παρατηρήθηκε μεταβολή των επιπέδων της Lp(a) σε καμία από τις 3 ομάδες.

Πίνακας 6. Λιπιδαιμικές παράμετροι κατά την έναρξη της μελέτης και μετά από 3 μήνες θεραπείας

	Έναρξη	3 μήνες	Μεταβολή, %
TC (mg/dL)			
Ομάδα R	242±36	222±34	-8.3 [†]
Ομάδα RF	256±47	222±32	-13.3 ^{††}
Ομάδα RE	263±59	229±44	-12.9 ^{††}
Τριγλυκερίδια (mg/dL)			
Ομάδα R	170 (150-287)	145 (103-243)	-14.7 [†]
Ομάδα RF	185 (152-361)	99 (63-284)	-46.5 ^{†,§}
Ομάδα RE	177 (163-284)	138 (115-238)	-22.0 [†]
HDL-C (mg/dL)			
Ομάδα R	50±11	54±9	+6.3 [†]
Ομάδα RF	47±10	59±11	+25.4 ^{††,§}
Ομάδα RE	52±11	50±11	-3.6
LDL-C (mg/dL)			
Ομάδα R	154±36	145±33	-5.8
Ομάδα RF	163±53	139±31	-14.4 ^{†,¶}
Ομάδα RE	169±44	134±56	-21 ^{††,¶}
non-HDL-C (mg/dL)			
Ομάδα R	195±52	171±42	-12.3 [†]
Ομάδα RF	208±43	162±36	-22.1 ^{††,¶}
Ομάδα RE	210±54	175±40	-16.4 ^{††,¶}
TC/ HDL-C			
Ομάδα R	4.9±0.6	4.2±0.5	-14.3 [†]
Ομάδα RF	5.3±1.0	3.8±0.9	-28.3 ^{†,§}
Ομάδα RE	5.1±0.8	4.6±1.1	-9.8 [†]
Απολιποπρωτεΐνη A1 (mg/dL)			
Ομάδα R	153±34	155±31	+1.6
Ομάδα RF	149±16	183±32	+22.5 ^{†,§}
Ομάδα RE	164±19	157±29	-4.6

Απολιποπρωτεΐνη Β**(mg/dL)**

Ομάδα R	113±34	103±23	-8.3
Ομάδα RF	128±29	97±29	-24.3 ^{†,¶}
Ομάδα RE	139±44	113±66	-18.9 ^{†,¶}

Lp(a) (mg/dL)

Ομάδα R	9.8 (3.2-28.7)	10.2 (3.1-30.2)	+4
Ομάδα RF	10.1 (2.4-24.7)	10.8 (2.4-24.7)	+7
Ομάδα RE	8.6 (2.4-34.9)	8.7 (2.5-35.2)	+1

Οι τιμές εκφράζονται ως μέση τιμή ± SD [εκτός από τα TG και την Lp(a) που δίνονται ως διάμεση τιμή (εύρος)]

TC: total cholesterol (ολική χοληστερόλη), HDL-C: high-density lipoprotein cholesterol (χοληστερόλη των υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών), LDL-C: low-density lipoprotein cholesterol (χοληστερόλη των χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών), Lp(a): lipoprotein (a) [λιποπρωτεΐνη (a)]

[†]p<0.05 σε σύγκριση με τα αρχικά επίπεδα

^{††}p<0.005 σε σύγκριση με τα αρχικά επίπεδα

[¶]p<0.05 για τη σύγκριση μεταξύ των ομάδων συνδυασμού (RF, RE) και της ομάδας μονοθεραπείας (R)

[§]p<0.05 για τη σύγκριση μεταξύ της ομάδας RF και των άλλων 2 ομάδων

6.2.3 Παράμετροι του μεταβολισμού των υδατανθράκων

Τα επίπεδα της γλυκόζης, της ινσουλίνης και του δείκτη HOMA δεν μεταβλήθηκαν σημαντικά σε καμία από τις 3 ομάδες (Πίνακας 7).

Πίνακας 7. Παράμετροι του μεταβολισμού των υδατανθράκων κατά την έναρξη της μελέτης και μετά από 3 μήνες θεραπείας

	Έναρξη	3 μήνες	Μεταβολή, %
Γλυκόζη (mg/dL)			
Ομάδα R	98±12	98±14	0
Ομάδα RF	96±22	95±12	-1
Ομάδα RE	99±9	95±8	-4
Ινσουλίνη (μU/mL)			
Ομάδα R	12 (2-29)	13 (3-20)	+4
Ομάδα RF	13 (5-22)	12 (2-26)	-5
Ομάδα RE	11 (2-24)	10 (2-22)	-4
Δείκτης HOMA-IR			
Ομάδα R	2.8 (0.5-5.5)	3.0 (0.6-6.3)	+5
Ομάδα RF	2.9 (1.1-5.2)	2.8 (0.4-3.8)	-3
Ομάδα RE	2.7 (1.1-4.0)	2.5 (1.1-5.0)	-7

Οι τιμές εκφράζονται ως μέση τιμή ± SD για τη γλυκόζη και ως διάμεση τιμή (εύρος) για την ινσουλίνη και το δείκτη HOMA-IR

HOMA-IR: homeostasis model assessment index-insulin resistance (δείκτης ομοιοστασίας των υδατανθράκων)

6.2.4 Ποιοτικές παράμετροι του μεταβολισμού των LDL

Η VLDL-C και η sdLDL-C μειώθηκαν σημαντικά σε όλες τις ομάδες (Πίνακας 8). Οι μεταβολές των δύο αυτών παραμέτρων ήταν σημαντικά μεγαλύτερες (-40% και -43%, αντίστοιχα) στην ομάδα RF σε σύγκριση με τις άλλες δύο ομάδες ($p < 0.05$ για τη σύγκριση μεταξύ της ομάδας RF και των άλλων 2 ομάδων). Επιπρόσθετα, παρατηρήθηκε σημαντική ελάττωση της ποσοστιαίας αναλογίας των sdLDL σωματιδίων επί του συνόλου των LDL σωματιδίων και στις 3 ομάδες θεραπείας, χωρίς να υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων (Πίνακας 8). Τέλος, στις ομάδες R και RF παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση της μέσης διαμέτρου των LDL σωματιδίων σε σύγκριση με τα αρχικά επίπεδα (+1,1%, $p < 0.05$ και +1,9%, $p < 0.005$ αντίστοιχα) (Πίνακας 8).

Με τη χρήση της πολυπαραγοντικής ανάλυσης βρέθηκε ότι οι μειώσεις της VLDL-C και της sdLDL-C συσχετίζονταν ανεξάρτητα με τη μείωση των TG στην ομάδα RF ($r = 0.52$;

$p < 0.05$ και $r = 0.43$; $p < 0.05$, αντίστοιχα) και με την ελάττωση της LDL-C στην ομάδα RE ($r = 0.37$; $p = 0.04$).

Πίνακας 8. Ποιοτικές παράμετροι του μεταβολισμού των LDL κατά την έναρξη της μελέτης και μετά από 3 μήνες θεραπείας

	Έναρξη	3 μήνες	Μεταβολή, %
VLDL-C (mg/dL)			
Ομάδα R	51 (37-89)	43 (34-63)	-18 [†]
Ομάδα RF	51 (38-72)	32 (25-46)	-40 ^{††,§}
Ομάδα RE	54 (31-78)	44 (22-67)	-22 [†]
sdLDL-C (mg/dL)			
Ομάδα R	34 (2-68)	22 (0-45)	-35 [†]
Ομάδα RF	38 (0-54)	20 (2-37)	-43 ^{†,§}
Ομάδα RE	32 (2-61)	22 (2-51)	-33 [†]
sdLDL (%)			
Ομάδα R	16 (2-32)	10 (2-31)	-35 [†]
Ομάδα RF	12 (3-27)	9 (2-18)	-25 [†]
Ομάδα RE	14 (7-30)	10 (4-24)	-26 [†]
Μέση διάμετρος των LDL (nm)			
Ομάδα R	26.3 (25.9-26.6)	26.6 (26.0-27.4)	1.1 [†]
Ομάδα RF	26.4 (25.2-27.2)	26.9 (25.9-27.5)	1.9 ^{††}
Ομάδα RE	26.3 (25.8-27.2)	26.5 (26.1-27.4)	0.8

Οι τιμές εκφράζονται ως διάμεση τιμή (εύρος)

VLDL-C: very low-density lipoprotein cholesterol (χοληστερόλη των πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών), sdLDL-C: small dense low-density lipoprotein cholesterol (χοληστερόλη των μικρών πυκνών χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών)

[†] $p < 0.05$ σε σύγκριση με τα αρχικά επίπεδα

^{††} $p < 0.01$ σε σύγκριση με τα αρχικά επίπεδα

[§] $p < 0.05$ για τη σύγκριση μεταξύ της ομάδας RF και των άλλων 2 ομάδων

6.2.5 Φαινότυπος των HDL σωματιδίων

Στο τέλος της θεραπείας παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση των επιπέδων της χοληστερόλης των μεγάλων HDL σωματιδίων σε όλες τις ομάδες θεραπείας, με την αύξηση αυτή να είναι σημαντικά μεγαλύτερη στην ομάδα RF (+40%, $p < 0.005$ σε σύγκριση με τα αρχικά επίπεδα και $p < 0.05$ για τη σύγκριση μεταξύ της ομάδας RF και των άλλων δύο ομάδων) (Πίνακας 9).

Η συγκέντρωση της χοληστερόλης των ενδιάμεσου μεγέθους HDL υποκλασμάτων αυξήθηκε σημαντικά μόνο στην ομάδα RF και η μεταβολή αυτή ήταν σημαντικά μεγαλύτερη σε σύγκριση με τις άλλες δύο ομάδες θεραπείας (+27%, $p < 0.05$ σε σύγκριση με τα αρχικά επίπεδα και για τη σύγκριση μεταξύ της ομάδας RF και των άλλων δύο ομάδων) (Πίνακας 9).

Τέλος, η συγκέντρωση της χοληστερόλης των μικρών HDL σωματιδίων ελαττώθηκε στις ομάδες R και RE (-6% και -12%, αντίστοιχα, $p < 0.05$ σε σύγκριση με τα αρχικά επίπεδα και για τις δύο μεταβολές), ενώ αυξήθηκε στην ομάδα RF (+25%, $p < 0.05$ σε σύγκριση με τα αρχικά επίπεδα και για τη σύγκριση μεταξύ της ομάδας RF και των άλλων δύο ομάδων) (Πίνακας 9).

Πίνακας 9. Χοληστερόλη των HDL κατά την έναρξη της μελέτης και μετά από 3 μήνες θεραπείας

	Έναρξη	3 μήνες	Μεταβολή, %
HDL-C (mg/dL)			
Ομάδα R	50±11	54±9	+6.3 [†]
Ομάδα RF	47±10	59±11	+25.4 ^{††,\$}
Ομάδα RE	52±11	50±11	-3.6
Μεγάλα HDL-C (mg/dL)			
Ομάδα R	14.3±4.1	14.7±6.3	+3 [†]
Ομάδα RF	10.0±4.1	14.0±5.2	+40 ^{††,\$}
Ομάδα RE	12.9±4.9	13.6±5.8	+5 [†]
Ενδιάμεσα HDL-C (mg/dL)			
Ομάδα R	22.9±5.1	22.4±5.8	+2
Ομάδα RF	20.0±2.7	25.4±2.3	+27 ^{†,\$}
Ομάδα RE	22.9±5.3	22.8±4.3	-0.4

Μικρά HDL-C (mg/dL)			
Ομάδα R	15.8±4.4	14.9±4.8	-6 [†]
Ομάδα RF	17.3±6.7	21.6±6.3	+25 ^{†,§}
Ομάδα RE	16.3±3.4	14.3±4.3	-12 [†]

Οι τιμές εκφράζονται ως μέση τιμή ± SD

HDL-C: high-density lipoprotein cholesterol (χοληστερόλη των υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών)

[†]p<0.05 σε σύγκριση με τα αρχικά επίπεδα

^{††}p<0.005 σε σύγκριση με τα αρχικά επίπεδα

[§]p<0.05 για τη σύγκριση μεταξύ της ομάδας RF και των άλλων 2 ομάδων

Οι αυξήσεις της συγκέντρωσης της χοληστερόλης όλων των HDL υποκλασμάτων στην ομάδα RF συσχετίζονταν με τις μεταβολές της συγκέντρωσης της HDL-C και των TG κατά τη διάρκεια της θεραπείας (Πίνακας 10). Αντίθετα, στις ομάδες R και RE δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ των μεταβολών της χοληστερόλης των μεγάλων και των μικρών HDL υποκλασμάτων με τις λιπιδαιμικές ή άλλες παραμέτρους ή με τις αντίστοιχες μεταβολές τους κατά τη διάρκεια της μελέτης.

Πίνακας 10. Ανάλυση με γραμμική παλινδρόμηση των παραμέτρων που συνέβαλαν στη μεταβολή της χοληστερόλης των HDL υποκλασμάτων στην ομάδα RF *

Παράμετρος	Μεγάλα HDL-C (mg/dL)		Ενδιάμεσα HDL-C (mg/dL)		Μικρά HDL-C (mg/dL)	
	beta	p	beta	p	beta	p
Μεταβολή της HDL-C	0.54	<0.01	0.41	<0.05	0.42	<0.05
Μεταβολή των TG	-0.43	<0.01	-0.24	<0.05	-0.37	<0.05

*Παρουσιάζονται μόνο οι σημαντικές συσχετίσεις

HDL-C: high-density lipoprotein cholesterol (χοληστερόλη των υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, beta: standardized regression coefficient

6.2.6. Ενεργότητα της LpPLA₂ του πλάσματος και της LpPLA₂ που είναι συνδεδεμένη με τις HDL

Παρατηρήθηκε σημαντική ελάττωση σε σύγκριση με τα αρχικά επίπεδα στην ενεργότητα της LpPLA₂ του πλάσματος, καθώς και στην ενεργότητα του ενζύμου που δεν είναι συνδεδεμένη με τις HDL (non-HDL-LpPLA₂) στις ομάδες RE (-25%, και -27%, αντίστοιχα, p=0.005 και για τις δύο μεταβολές) και RF (-47%, και -48%, αντίστοιχα, p<0.01 και για τις δύο μεταβολές), ενώ δεν παρατηρήθηκε σημαντική μεταβολή στους ασθενείς που πήραν μονοθεραπεία (p=0.01 για τη σύγκριση μεταξύ της ομάδας RE και της ομάδας R και για τις δύο παραμέτρους, καθώς και για τη σύγκριση της ομάδας RF και της ομάδας R για την ενεργότητα της LpPLA₂ και p=0.001 για τη σύγκριση της ομάδας RF και της ομάδας R για την ενεργότητα της non-HDL-LpPLA₂) (Πίνακας 11). Η ενεργότητα της LpPLA₂ που είναι συνδεδεμένη με τις HDL αυξήθηκε σημαντικά μόνο στην ομάδα RF (+54%, p<0.01 σε σύγκριση με τα αρχικά επίπεδα, p=0.03 έναντι της ομάδας RE και p=0.05 έναντι της ομάδας R) (Πίνακας 11). Ωστόσο, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ των παραπάνω μεταβολών με τις μεταβολές των λιπιδαιμικών ή των σωματομετρικών παραμέτρων σε καμία από τις 3 ομάδες αγωγής.

Πίνακας 11. Ενεργότητα της LpPLA₂ του πλάσματος και της LpPLA₂ που είναι συνδεδεμένη με τις HDL κατά την έναρξη της μελέτης και μετά από 3 μήνες θεραπείας

	Έναρξη	3 μήνες	Μεταβολή, %
Ενεργότητα LpPLA₂ (nmol/ml/min)			
Ομάδα R	61.1±13.2	63.2±17.5	+3
Ομάδα RF	61.0±14.0	33.0±10.4	-47 ^{†,§§}
Ομάδα RE	70.9±16.0	53.1±16.8	-25 ^{††,§§}
Ενεργότητα non-HDL-LpPLA₂ (nmol/ml/min)			
Ομάδα R	59.8±18.2	62.8±19.3	+5
Ομάδα RF	59.2±14.5	30.2±10.7	-48 ^{†,§§§}
Ομάδα RE	68.9±16.1	50.8±16.6	-27 ^{††,§§}

Ενεργότητα HDL-LpPLA₂ (nmol/ml/min)			
Ομάδα R	2.8±1.5	3.0±1.56	+7
Ομάδα RF	1.8±0.46	2.8±0.9	+54 ^{†,§,¶}
Ομάδα RE	2.1±0.5	2.2±0.8	+4

Οι τιμές εκφράζονται ως μέση τιμή ± SD

LpPLA₂: lipoprotein associated phospholipase A₂ (συνδεδεμένη με λιποπρωτεΐνες φωσφολιπάση A₂), HDL-C: high-density lipoprotein cholesterol (χοληστερόλη των υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών)

[†]p<0.01 σε σύγκριση με τα αρχικά επίπεδα

^{††}p=0.005 σε σύγκριση με τα αρχικά επίπεδα

[§]p=0.05 έναντι της ομάδας R

^{§§}p=0.01 έναντι της ομάδας R

^{§§§}p=0.001 έναντι της ομάδας R

[¶]p=0.03 έναντι της ομάδας RE

6.2.7 Ενεργότητα της PON1

Κατά τη διάρκεια της μελέτης προσδιορίστηκε η ενεργότητα της PON1 τόσο έναντι του paraoxon όσο και έναντι του phenylacetate, καθώς και οι λόγοι PON1 (paraoxon)/LDL-C και PON1 (phenylacetate)/LDL-C.

Παρατηρήθηκε σημαντική ελάττωση στην ενεργότητα της PON1 έναντι του paraoxon στην ομάδα RF (-10%, p=0.05 σε σύγκριση με τα αρχικά επίπεδα), ενώ δεν υπήρξε σημαντική μεταβολή στις άλλες δύο ομάδες. Αντίθετα, η ενεργότητα της PON1 έναντι του phenylacetate αυξήθηκε σημαντικά στις ομάδες R (+16%, p=0.05 σε σύγκριση με τα αρχικά επίπεδα) και RE (+29%, p=0.05 σε σύγκριση με τα αρχικά επίπεδα) και παρουσίασε μια μη σημαντική ελάττωση (-7%) στην ομάδα RF (Πίνακας 12). Ωστόσο, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων στις παραπάνω μεταβολές.

Ο λόγος PON1 (paraoxon)/LDL-C δεν παρουσίασε σημαντική μεταβολή σε καμία από τις 3 ομάδες. Αντίθετα, ο λόγος PON1 (phenylacetate)/LDL-C αυξήθηκε σημαντικά στις ομάδες R (+23%, p=0.05 σε σύγκριση με τα αρχικά επίπεδα) και RE +63%, p=0.05 σε σύγκριση με τα αρχικά επίπεδα και p<0.05 για τη σύγκριση μεταξύ των ομάδων RE και RF) (Πίνακας 12).

Πίνακας 12. Μεταβολές της PON1 κατά την έναρξη της μελέτης και μετά από 3 μήνες θεραπείας

	Έναρξη	3 μήνες	Μεταβολή, %
PON1 (paraoxon) (IU/L)			
Ομάδα R	113.7±38	108.9±39.2	-4
Ομάδα RF	108.2±36.0	97.4±30.6	-10 [†]
Ομάδα RE	69.8±27.2	71.7±40.9	+3
PON1 (paraoxon)/LDL-C (IU/mg)			
Ομάδα R	0.74±0.14	0.75±0.29	+1
Ομάδα RF	0.67±0.30	0.70±0.32	+5
Ομάδα RE	0.41±0.17	0.43±0.34	+5
PON1 (phenylacetate) (IU/mL)			
Ομάδα R	42.7±15.1	49.4±9.4	+16 [†]
Ομάδα RF	43.8±9.4	40.9±15.6	-7
Ομάδα RE	35.8±15.6	46.3±10.4	+29 [†]
PON1 (phenylacetate)/LDL-C (IU/mg)			
Ομάδα R	27.8±5.3	34.1±5.6	+23 [†]
Ομάδα RF	26.9±6.7	29.4±5.5	+9
Ομάδα RE	21.2±4.4	34.6±10.2	+63 ^{†,§}

Οι τιμές εκφράζονται ως μέση τιμή ± SD

PON1: paraoxonase 1 (παραοξονάση 1)

[†]p=0.05 σε σύγκριση με τα αρχικά επίπεδα

[§]p<0.05 για τη σύγκριση μεταξύ των ομάδων RE και RF

6.2.8 Αδιποκίνες

6.2.8.1 Λεπτίνη

Παρατηρήθηκε σημαντική μείωση των επιπέδων της λεπτίνης σε σύγκριση με τα αρχικά επίπεδα και στις 3 ομάδες θεραπείας (-38%, p<0.005 στην ομάδα R, -44%, p<0.001 στην ομάδα RE και -40%, p<0.05 στην ομάδα RF). Οι μεταβολές αυτές δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ των 3 ομάδων (Πίνακας 13). Επιπρόσθετα, παρατηρήθηκε θετική, αν και όχι

στατιστικά σημαντική, συσχέτιση μεταξύ της μείωσης των επιπέδων της λεπτίνης και της ελάττωσης του ΣΒ σε όλες τις ομάδες ($r=0.38$, $r=0.51$ και $r=0.26$ στις ομάδες R, RE και RF, αντίστοιχα; $p=0.06$ και στις 3 ομάδες).

6.2.8.2 Αδιπονεκτίνη

Δεν παρατηρήθηκε σημαντική μεταβολή στα επίπεδα της ολικής αδιπονεκτίνης σε καμία από τις 3 ομάδες. Ωστόσο, παρατηρήθηκε μια τάση αύξησης της συγκέντρωσης της υψηλού μοριακού βάρους (MB) αδιπονεκτίνης στις ομάδες R και RF σε σύγκριση με τα αρχικά επίπεδα (+17 και +23%, αντίστοιχα; $p=0.06$ και για τις δύο ομάδες), καθώς και του λόγου υψηλού MB/ολική αδιπονεκτίνη στην ομάδα RF (+10%, $p=0.06$ σε σύγκριση με τα αρχικά επίπεδα). Ο λόγος αυτός αυξήθηκε σημαντικά στην ομάδα R (+12.5%, $p=0.03$), ενώ δεν παρουσίασε σημαντική μεταβολή στην ομάδα RE (Πίνακας 13).

6.2.8.3 Βισφατίνη

Τα επίπεδα της βισφατίνης ελαττώθηκαν σημαντικά σε σύγκριση με τα αρχικά επίπεδα στις ομάδες RE (-18%, $p<0.05$) και RF (-38%, $p<0.05$) και οι μεταβολές αυτές ήταν μεγαλύτερες σε σύγκριση με την ομάδα R ($p<0.05$ έναντι της ομάδας R) (Πίνακας 13).

Πίνακας 13. Μεταβολές των αδιποκινών κατά την έναρξη της μελέτης και μετά από 3 μήνες θεραπείας

	Έναρξη	3 μήνες	Μεταβολή, %
Λεπτίνη (ng/mL)			
Ομάδα R	30.8 (11.1-50.6)	19.0 (4.7-37.2)	-38.0 ^{††}
Ομάδα RE	33.2 (5.0-51.7)	18.7 (5.0-30.7)	-44.0 ^{†††}
Ομάδα RF	28.8 (3.2-48.6)	17.3 (3.5-36.3)	-40.0 [†]
Ολική αδιπονεκτίνη (μg/mL)			
Ομάδα R	6.8 (2.8-14)	7.2 (3.4-14.5)	+5.0
Ομάδα RE	7.7 (3.8-11.1)	8.3 (0.4-14.2)	+7.0
Ομάδα RF	4.5 (3.0-7.1)	4.7 (3.0-7.4)	+6.0

Υψηλού MB αδιπονεκτίνη (µg/mL)			
Ομάδα R	3.3 (0.4-8.5)	3.9 (0.9-10.0)	+17.5 [¶]
Ομάδα RE	4.9 (2.6-7.6)	5.3 (1.6-8.4)	+6.0
Ομάδα RF	1.8 (0.9-2.6)	2.2 (0.6-3.4)	+23.0 [¶]
Λόγος υψηλού MB/ολική αδιπονεκτίνη			
Ομάδα R	0.48 (0.15-0.73)	0.54 (0.26-0.69)	+12.5 [†]
Ομάδα RE	0.63 (0.39-0.74)	0.64 (0.48-0.72)	+1.0
Ομάδα RF	0.41 (0.28-0.59)	0.46 (0.21-0.58)	+10.0 [¶]
Βισφατίνη (ng/mL)			
Ομάδα R	2.6 (1.6-3.9)	2.5 (1.3-5.3)	-4.5
Ομάδα RE	2.4 (1.4-3.4)	2.0 (1.0-3.4)	-18.0 ^{†,§}
Ομάδα RF	3.6 (2.5-5.5)	2.2 (1.4-3.3)	-38.0 ^{†,§}

Οι τιμές εκφράζονται ως διάμεση τιμή (εύρος)

MB: μοριακό βάρος

[†]p<0.05 σε σύγκριση με τα αρχικά επίπεδα

^{††}p<0.005 σε σύγκριση με τα αρχικά επίπεδα

^{†††}p<0.001 σε σύγκριση με τα αρχικά επίπεδα

[§]p<0.05 έναντι της ομάδας R

[¶]p=0.06 σε σύγκριση με τα αρχικά επίπεδα

6.2.9 Ασφάλεια

Από τους 60 ασθενείς που συμμετείχαν στη μελέτη οι 4 (6.7%) δεν ολοκλήρωσαν τη μελέτη εξαιτίας ανεπιθύμητων ενεργειών: δύο γυναίκες στην ομάδα R, μία γυναίκα στην ομάδα RF και ένας άνδρας στην ομάδα RE. Συγκεκριμένα, οι ασθενείς αυτοί εμφάνισαν γαστρεντερικές διαταραχές και για αυτό το λόγο είχαν πλημμελή συμμόρφωση στη θεραπεία. Κανένας ασθενής δεν εμφάνισε καταθλιπτική συμπτωματολογία, αυτοκτονικό ιδεασμό ή άλλες διαταραχές του θυμικού. Οι συχνότερες ανεπιθύμητες ενέργειες στο σύνολο των ασθενών της μελέτης αφορούσαν ήπιες ως μέτριες γαστρεντερικές διαταραχές, οι οποίες κατά κανόνα εξασθενούσαν σε ένταση με τη συνέχιση της θεραπείας.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η μελέτη αυτή είναι η μοναδική στην οποία το rimonabant συγχορηγήθηκε με εξετιμίμπη και φαινοφιμπράτη, οπότε δεν υπάρχουν συγκριτικά δεδομένα για τις παραμέτρους που μελετήσαμε. Επομένως, τα συμπεράσματα της μελέτης κατά κανόνα προέκυψαν από τα δεδομένα που υπάρχουν στη βιβλιογραφία για τα 3 επιμέρους φάρμακα.

7.1 Επίδραση στις ανθρωπομετρικές παραμέτρους και την ΑΠ

Οι ασθενείς και στις 3 ομάδες θεραπείας πέτυχαν σημαντικές παρόμοιες μειώσεις του ΣΒ, του ΒΜΙ και της περιμέτρου μέσης, οι οποίες οφείλονταν στη χορήγηση του rimonabant. Οι μεταβολές στις σωματομετρικές παραμέτρους ήταν αντίστοιχες με αυτές που παρατηρήθηκαν στο πρόγραμμα RIO και τις υπόλοιπες μελέτες με τη χορήγηση του rimonabant [211-217]. Συγκεκριμένα, η απώλεια βάρους κυμαινόταν από 2,5 kg (στη μελέτη ARPEGGIO) μέχρι 6,7 kg (στις μελέτες SERENADE και Rio-Lipids), ενώ στη μελέτη μας παρατηρήθηκε ελάττωση του ΣΒ κατά 4,1 kg στην ομάδα RF, 5,7 kg στην ομάδα RE και 6,2 kg στην ομάδα R. Η μείωση της περιμέτρου μέσης στις επιμέρους μελέτες του rimonabant κυμάνθηκε από 5,5% ως 7,2% (περίπου 6 εκ) με τη δόση των 20 mg, ένα εύρημα που συμφωνεί με τις δικές μας παρατηρήσεις. Πράγματι, οι μεταβολές στην περίμετρο μέσης ήταν -6,8%, -7% και -7,1% στις ομάδες R, RF και RE, αντίστοιχα. Η ελάττωση του ΒΜΙ συμβάδιζε απόλυτα με την ελάττωση του ΣΒ και στις 3 ομάδες θεραπείας.

Στη μελέτη μας παρατηρήθηκε σημαντική ελάττωση της συστολικής και της διαστολικής ΑΠ και στις 3 ομάδες θεραπείας, ένα εύρημα που παρατηρήθηκε σε ορισμένες [601], όχι όμως σε όλες τις μελέτες με τη χορήγηση του rimonabant [214]. Η μείωση της ΑΠ οφείλεται σε σημαντικό βαθμό στην απώλεια βάρους. Φαίνεται ότι και άλλοι μηχανισμοί διαδραματίζουν κάποιο ρόλο στη μείωση της ΑΠ, δεδομένου ότι στις μελέτες στις οποίες δεν παρατηρήθηκε σημαντική μεταβολή της ΑΠ, παρατηρήθηκε σημαντική ελάττωση του ΣΒ. Στο πρόγραμμα RIO η μείωση της ΑΠ ήταν στατιστικά σημαντική στους ασθενείς που είχαν υψηλά αρχικά επίπεδα ΑΠ [602]. Ωστόσο, στη μελέτη μας παρότι οι ασθενείς δεν είχαν ιδιαίτερα υψηλές τιμές ΑΠ πριν την έναρξη της θεραπείας (Πίνακας 5), η ελάττωση της ΑΠ ήταν σημαντική.

7.2 Επίδραση στις παραμέτρους του μεταβολισμού των λιπιδίων

Το rimonabant οδήγησε σε βελτίωση του λιπιδαιμικού προφίλ, επηρεάζοντας σε άλλοτε άλλο βαθμό τις επιμέρους παραμέτρους του μεταβολισμού των λιπιδίων, στις διάφορες μελέτες. Συγκεκριμένα, η χορήγηση rimonabant έχει συσχετισθεί με αύξηση της HDL-C [από 3,14% (μελέτη ARPEGGIO) [215] ως 16,2% (Rio-Europe)] [210], ελάττωση των TG [από 4% (μελέτη ARPEGGIO) [215] ως 19,5% (μελέτη ADAGIO-Lipids)] [216] και μείωση του λόγου TC/HDL-C (-0,45 στις μελέτες SERENADE και ADAGIO-Lipids) [216]. Το μεγάλο εύρος των μεταβολών της HDL-C και των TG μεταξύ των διαφόρων μελετών πιθανά οφείλεται στους διαφορετικούς πληθυσμούς των ασθενών και τα διαφορετικά αρχικά επίπεδα αυτών των παραμέτρων στις συγκεκριμένες μελέτες. Τα επίπεδα της TC και της LDL-C δεν επηρεάστηκαν σημαντικά από τη θεραπεία με rimonabant σε καμία μελέτη. Ωστόσο, σε ορισμένες μελέτες παρατηρήθηκε αύξηση του μεγέθους των LDL σωματιδίων και ελάττωση του ποσοστού των sdLDL σωματιδίων [211, 214, 216].

Οι μεταβολές που παρατηρήθηκαν στην ομάδα της μονοθεραπείας στη μελέτη μας ήταν αντίστοιχες με αυτές των παραπάνω μελετών και ειδικότερα με αυτές του προγράμματος RIO (δεν λαμβάνουμε υπόψη τη μελέτη Rio-Diabetes λόγω του διαφορετικού πληθυσμού ασθενών) και της μελέτης ADAGIO Lipids στις οποίες συμμετείχαν παρόμοιοι πληθυσμοί με το δικό μας (δηλαδή υπέρβαροι και παχύσαρκοι ασθενείς με δυσλιπιδαιμία). Συγκεκριμένα, η HDL-C αυξήθηκε κατά 6,3% στην ομάδα R, μεταξύ 7,2-8,9% στο πρόγραμμα RIO [603] και κατά 8,7% στη μελέτη ADAGIO Lipids [216], ενώ τα TG μειώθηκαν κατά 14,7% στην ομάδα R, μεταξύ 12,4-15,1% στο πρόγραμμα RIO [603] και κατά 19,5% στη μελέτη ADAGIO Lipids [216]. Ο λόγος TC/HDL-C ελαττώθηκε κατά 14,3% (κατά 0,7 σε απόλυτη τιμή) στην ομάδα R, λίγο περισσότερο δηλαδή από τη μείωση που παρατηρήθηκε στις μελέτες SERENADE και ADAGIO-Lipids. Δεν παρατηρήθηκε σημαντική μεταβολή των επιπέδων της LDL-C (οι μεταβολές του μεγέθους των LDL σωματιδίων και της sdLDL-C θα συζητηθούν παρακάτω) και της apoB, ένα εύρημα συμβατό με τις μελέτες του rimonabant. Επιπρόσθετα, στη δική μας μελέτη παρατηρήθηκε σημαντική ελάττωση της TC και της non-HDL-C, ένα εύρημα που δεν διαπιστώθηκε στις προαναφερόμενες μελέτες. Αυτή η μείωση εξηγεί και τη λίγο μεγαλύτερη μεταβολή του αθηρωματικού δείκτη TC/HDL-C στη μελέτη μας.

Η εξετιμίμπη ως μονοθεραπεία έχει συσχετισθεί με ελάττωση της LDL-C μέχρι και κατά 18%, καθώς και με μικρή μείωση των TG και αύξηση των επιπέδων της HDL-C [324,

604]. Ωστόσο, σε ορισμένες μελέτες έχει παρατηρηθεί ελάττωση της HDL-C με τη χορήγηση εξετιμίμπης [325, 605]. Η τελευταία πιθανά οφείλεται στη μειωμένη εντερική απορρόφηση της χοληστερόλης. Στην ομάδα RE παρατηρήθηκε μείωση της LDL-C της τάξης του 21%, η οποία είναι αναμενόμενη με βάση τη μεταβολή που προκαλεί η εξετιμίμπη στη συγκεκριμένη παράμετρο, αν λάβουμε υπόψη και τη μικρή ελάττωση της LDL-C που πιθανά οφείλεται στη χορήγηση του rimonabant. Ανάλογη ήταν και η μεταβολή της συγκέντρωσης της apoB (-18,9%). Οι δύο αυτές μεταβολές διέφεραν σημαντικά από τις αντίστοιχες της ομάδας R, ένα εύρημα που δείχνει τη σημασία της προσθήκης εξετιμίμπης στη θεραπεία με rimonabant για τη μείωση της συγκεκριμένης αθηρογόνου λιποπρωτεΐνης. Επιπλέον παρατηρήθηκε σημαντική ελάττωση των TG, η οποία ήταν σχετικά μεγαλύτερη από αυτή που παρατηρήθηκε στην ομάδα R. Πιθανά ο συνδυασμός των δύο φαρμάκων (rimonabant, εξετιμίμπη) και η απώλεια βάρους ευθύνονται για αυτή τη μεταβολή. Αντίθετα, τα επίπεδα της HDL-C εμφάνισαν μια μικρή, αλλά όχι σημαντική ελάττωση, η οποία φαίνεται ότι οφείλεται στην εξετιμίμπη και όχι στην υποθερμιδική δίαιτα ή την απώλεια βάρους, δεδομένου ότι οι ασθενείς και των 3 ομάδων ακολούθησαν την ίδια δίαιτα και εμφάνισαν παρόμοιες μεταβολές στις σωματομετρικές παραμέτρους (στις άλλες δύο ομάδες τα επίπεδα της HDL-C αυξήθηκαν). Τέλος, παρατηρήθηκε σημαντική μείωση της TC (-12,9%), η οποία είναι συμβατή με τη χορήγηση της εξετιμίμπης, καθώς και της non-HDL-C (-16,4%) και του λόγου TC/HDL-C (-9,8%) που οφείλονται κυρίως στη μεταβολή της TC.

Η φαινοφιμπράτη βελτιώνει σημαντικά την αθηρογόνο δυσλιπιδαιμία, οδηγώντας σε ελάττωση των TG κατά 20-50% (ανάλογα με τα αρχικά επίπεδα των TG) και αύξηση της HDL-C κατά 10-20%, ενώ έχει μικρότερη επίδραση στα επίπεδα της LDL-C [606]. Ωστόσο, έχουν αναφερθεί μειώσεις της LDL-C μέχρι και κατά 20% σε ασθενείς με πρωτοπαθή υπερχοληστερολαιμία, ενώ επίσης φαίνεται ότι η φαινοφιμπράτη έχει ευνοϊκή επίδραση στο φαινότυπο των LDL υποκλασμάτων [606] (οι μεταβολές του μεγέθους των LDL σωματιδίων και της sdLDL-C θα συζητηθούν παρακάτω).

Στην ομάδα RF παρατηρήθηκε ελάττωση της LDL-C (-14,4%) η οποία διέφερε σημαντικά από την αντίστοιχη της ομάδας R και μπορεί να αποδοθεί κυρίως στη χορήγηση της φαινοφιμπράτης, δεδομένου ότι η μονοθεραπεία με rimonabant είχε μικρή, μη σημαντική επίδραση στη συγκεκριμένη παράμετρο, ενώ τόσο οι μεταβολές των σωματομετρικών παραμέτρων όσο και τα αρχικά επίπεδα της LDL-C δεν διέφεραν μεταξύ των ομάδων RF και R. Δεν μπορεί να αποκλεισθεί η ενδεχόμενη συνεργική δράση των δύο φαρμάκων, αν

και δεν έχουν προταθεί υποκείμενοι μηχανισμοί. Επιπρόσθετα, παρατηρήθηκε μεγαλύτερη ελάττωση των επιπέδων της apoB στην ομάδα RF (-24,3%; $p < 0.05$ έναντι της ομάδας R), η οποία συμβαδίζει με την αντίστοιχη της LDL-C. Ενδεχόμενα, η σημαντική μείωση των TG στην ομάδα RF να συνέβαλε στη μεταβολή των επιπέδων της apoB.

Η μεταβολή των επιπέδων των TG στην ομάδα RF (-46,5%) φαίνεται ότι είναι αθροιστική και μπορεί να ερμηνευθεί από τις επιμέρους μεταβολές που προκαλούν τα δύο φάρμακα στη συγκεκριμένη παράμετρο. Ομοίως, η αύξηση της HDL-C, η οποία ήταν της τάξης του 25%, μπορεί να αποδοθεί στις επιμέρους αυξήσεις που προκαλεί καθένα από τα δύο φάρμακα, αφού τόσο το rimonabant όσο και η φαινοφιμπράτη έχουν συσχετισθεί με αυξήσεις των επιπέδων της HDL-C που κυμαίνονται μεταξύ 3-16% και 10-20%, αντίστοιχα. Μάλιστα, μόνο στην ομάδα RF παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση της apoA1. Αξίζει να σημειωθεί ότι οι παραπάνω μεταβολές διέφεραν σημαντικά από τις αντίστοιχες μεταβολές που παρατηρήθηκαν στις άλλες δύο ομάδες, ένα εύρημα που υποδηλώνει την ιδιαίτερα ευνοϊκή επίδραση του συγκεκριμένου συνδυασμού φαρμάκων (rimonabant, φαινοφιμπράτη) στην αθηρογόνο δυσλιπιδαιμία. Επιπρόσθετα, στην ομάδα RF παρατηρήθηκαν σημαντικές μειώσεις της TC (-13,3%), της non-HDL-C (-22,1%) και του λόγου TC/HDL-C (-28,3%). Η μεταβολή του λόγου TC/HDL-C διέφερε σημαντικά από τις άλλες δύο ομάδες, ένα εύρημα που συμβαδίζει με τη σημαντικά μεγαλύτερη αύξηση της HDL-C που παρατηρήθηκε σε αυτή την ομάδα ασθενών.

7.3 Επίδραση στις παραμέτρους του μεταβολισμού των υδατανθράκων

Δεν παρατηρήθηκε σημαντική μεταβολή των παραμέτρων της ομοιοστασίας των υδατανθράκων σε καμία από τις 3 ομάδες της μελέτης. Αντίθετα, στις περισσότερες μελέτες με τη χορήγηση rimonabant παρατηρήθηκε ευνοϊκή επίδραση στην ομοιοστασία των υδατανθράκων [211-214, 216, 217]. Συγκεκριμένα, η θεραπεία με rimonabant συσχετίστηκε με ελάττωση των επιπέδων της γλυκόζης, της ινσουλίνης και του δείκτη HOMA τόσο σε ασθενείς με ΣΔ, όσο και σε μη διαβητικούς ασθενείς [211-214, 216, 217]. Η ευνοϊκή αυτή επίδραση αποδόθηκε μόνο κατά το ήμισυ στην απώλεια βάρους, ενώ οι μεγαλύτερες μεταβολές παρατηρήθηκαν σε ασθενείς με ΣΔ και ιδιαίτερα σε όσους είχαν υψηλά αρχικά επίπεδα HbA1c [602]. Η ουδέτερη επίδραση της θεραπείας στο μεταβολισμό των υδατανθράκων στη μελέτη μας, παρά τα ευνοϊκά αποτελέσματα στις ανθρωπομετρικές παραμέτρους, πιθανά οφείλεται στο μικρό αριθμό ασθενών, το βραχύ χρονικό διάστημα της θεραπευτικής αγωγής και στο γεγονός ότι οι ασθενείς δεν είχαν

ιδιαίτερα επιβαρυνόμενο γλυκαιμικό προφίλ (επίπεδα γλυκόζης νηστείας < 100 mg/dL σε όλες τις ομάδες).

7.4 Επίδραση στις ποιοτικές παραμέτρους του μεταβολισμού των LDL

Όπως ήδη αναφέρθηκε, αν και δεν παρατηρήθηκε σημαντική μεταβολή των επιπέδων της LDL-C με τη χορήγηση rimonabant σε καμία μελέτη, σε ορισμένες από αυτές τις μελέτες παρατηρήθηκε αύξηση του μεγέθους των LDL σωματιδίων και ελάττωση του ποσοστού των sdLDL σωματιδίων [211, 214, 216].

Η επίδραση της εξετιμίμπης στις ποιοτικές παραμέτρους του μεταβολισμού των LDL έχει διερευνηθεί σε ένα μικρό αριθμό μελετών. Σε μία μελέτη σε ασθενείς με μικτή υπερλιπιδαιμία (n=611) που τυχαιοποιήθηκαν σε εικονικό φάρμακο, φαινοφιμπράτη, εξετιμίμπη ή το συνδυασμό τους (1:3:3:3) η χορήγηση εξετιμίμπης οδήγησε σε ελάττωση της χοληστερόλης σε όλα τα σωματίδια που περιέχουν apoB (VLDL, IDL, LDL), όχι όμως και σε μεταβολή του μεγέθους των LDL σωματιδίων [244]. Στη συγκεκριμένη μελέτη ο μέσος BMI ήταν 29.3 kg/m², ένα εύρημα που υποδηλώνει ότι στη συγκεκριμένη μελέτη συμμετείχαν αρκετοί υπέρβαροι και παχύσαρκοι ασθενείς, επομένως ο πληθυσμός της ήταν παρόμοιος με τον δικό μας.

Σε μια μελέτη της ερευνητικής μας ομάδας σε 50 ασθενείς με πρωτοπαθή υπερχοληστερολαιμία η χορήγηση εξετιμίμπης οδήγησε σε σημαντική ελάττωση της VLDL-C, καθώς και της συγκέντρωσης όλων των LDL σωματιδίων, ιδιαίτερα όμως των sdLDL σωματιδίων. Μάλιστα η τελευταία μεταβολή ήταν μεγαλύτερη στους ασθενείς με υψηλότερα αρχικά επίπεδα TG, ενώ σε πολυπαραγοντική ανάλυση η μεταβολή των TG ήταν ο μοναδικός ανεξάρτητος παράγοντας μείωσης των sdLDL υποκλασμάτων [325]. Αξίζει να σημειωθεί ότι στο πολυπαραγοντικό μοντέλο συμπεριλήφθηκε ο BMI ως μεταβλητή, επομένως τα ευρήματα ήταν παρόμοια τόσο σε παχύσαρκα άτομα όσο και σε άτομα με φυσιολογικό ΣΒ.

Σε μια άλλη μελέτη διερευνήσαμε την επίδραση της εξετιμίμπης, της ορλιστάτης και του συνδυασμού τους στα επίπεδα της LDL-C και της sdLDL-C σε υπέρβαρους και παχύσαρκους ασθενείς με υπερχοληστερολαιμία. Η θεραπεία με εξετιμίμπη συσχετίστηκε με σημαντικές μειώσεις τόσο της LDL-C όσο και της sdLDL-C (-21% και -48%, αντίστοιχα; p<0.01 έναντι των αρχικών επιπέδων και για τις 2 μεταβολές), καθώς και με σημαντική αύξηση της μέσης διαμέτρου των LDL σωματιδίων της τάξης του 0,6% [369].

Όπως και στην προηγούμενη μελέτη, η ελάττωση των TG ήταν ο σημαντικότερος ανεξάρτητος παράγοντας ελάττωσης της sdLDL-C [369].

Σε μια άλλη μελέτη σε ασθενείς με πρωτοπαθή υπερχοληστερολαιμία η χορήγηση εξετιμίμπης οδήγησε σε ελάττωση όλων των LDL υποκλάσμάτων, κυρίως όμως των μεγαλύτερων LDL σωματιδίων, ενώ δεν επηρέασε το μέγεθός τους [607]. Ομοίως, σε μια μελέτη σε ασθενείς με υπερχοληστερολαιμία και ΣΝ η θεραπεία με εξετιμίμπη ελάττωσε τη μέση συγκέντρωση χοληστερόλης σε όλα τα LDL υποκλάσματα με εξαίρεση τα sdLDL, ενώ η μεγαλύτερη μείωση παρατηρήθηκε στα μεγαλύτερα LDL σωματίδια. Ωστόσο, στη συγκεκριμένη μελέτη οι ασθενείς έπαιρναν στατίνες και υποβάλλονταν σε LDL αφαίρεση, οπότε τα αποτελέσματα δεν μπορούν να αποδοθούν αποκλειστικά στην εξετιμίμπη [327]. Συμπερασματικά, η εξετιμίμπη δεν επηρεάζει το μέγεθος των LDL σωματιδίων, ενώ ελαττώνει τη χοληστερόλη κυρίως του μέσου και μεγάλου μεγέθους LDL σωματιδίων. Εξαίρεση φαίνεται ότι αποτελούν οι ασθενείς με υπερτριγλυκεριδαιμία, στους οποίους η μείωση αφορά κυρίως τα sdLDL σωματίδια.

Η επίδραση της φαινοφιμπράτης στις ποιοτικές παραμέτρους του μεταβολισμού των LDL έχει διερευνηθεί σε αρκετές μελέτες στις οποίες συμμετείχαν διαφορετικοί πληθυσμοί ασθενών, οι περισσότερες από τις οποίες έδειξαν ευνοϊκά αποτελέσματα. Συγκεκριμένα, η χορήγηση φαινοφιμπράτης έχει συσχετισθεί με ελάττωση των sdLDL σωματιδίων και αύξηση του μεγέθους των LDL σωματιδίων σε ασθενείς με μικτή δυσλιπιδαιμία, υπερτριγλυκεριδαιμία, ΣΔ2, νεφρωσικό σύνδρομο και δυσλιπιδαιμία σχετιζόμενη με HIV λοίμωξη [608]. Μια μελέτη της ερευνητικής μας ομάδας διερεύνησε την επίδραση της ορλιστάτης, της φαινοφιμπράτης και του συνδυασμού τους στο φαινότυπο των LDL σωματιδίων σε υπέρβαρους και παχύσαρκους ασθενείς με μεταβολικό σύνδρομο (N=89) [302], σε παρόμοιο δηλαδή πληθυσμό με τον πληθυσμό της παρούσας μελέτης. Η χορήγηση φαινοφιμπράτης οδήγησε σε σημαντική ελάττωση των επιπέδων της VLDL-C και της sdLDL-C, καθώς και σε αύξηση της διαμέτρου των LDL σωματιδίων. Σε ανάλυση πολλαπλής παλινδρόμησης (multiple regression analysis) οι παραπάνω μεταβολές εμφάνισαν σημαντική και ανεξάρτητη συσχέτιση με την ελάττωση των επιπέδων των TG [302].

Στη μελέτη που προαναφέρθηκε στους ασθενείς με μικτή υπερλιπιδαιμία που τυχαιοποιήθηκαν σε εικονικό φάρμακο, φαινοφιμπράτη, εξετιμίμπη ή το συνδυασμό τους (1:3:3:3) η χορήγηση φαινοφιμπράτης συσχετίστηκε με μείωση της χοληστερόλης στα υποκλάσματα των VLDL, IDL LDL και αύξηση της χοληστερόλης στα μεγαλύτερα

υποκλάσματα των LDL [244]. Επιπρόσθετα, παρατηρήθηκε μια μετατόπιση προς τα LDL σωματίδια μεγαλύτερου μεγέθους, ένα εύρημα συμβατό με τις παραπάνω μεταβολές [244]. Φαίνεται, επομένως, ότι το συγκεκριμένο φάρμακο έχει ιδιαίτερα ευνοϊκή επίδραση στο φαινότυπο των LDL σωματιδίων, κυρίως σε ασθενείς με αθηρογόνο δυσλιπιδαιμία.

Στη μελέτη μας η VLDL-C και η sdLDL-C μειώθηκαν σημαντικά σε όλες τις ομάδες, με τις μεταβολές αυτές να είναι σημαντικά μεγαλύτερες στην ομάδα RF ($p < 0.05$ έναντι των άλλων 2 ομάδων), ευρήματα συμβατά με τις παραπάνω μελέτες, καθώς και με τη μεγαλύτερη μείωση των TG στη συγκεκριμένη ομάδα θεραπείας. Ωστόσο, η ελάττωση της ποσοστιαίας αναλογίας των sdLDL σωματιδίων επί του συνόλου των LDL σωματιδίων ήταν παρόμοια στις 3 ομάδες θεραπείας. Πιθανά τα υψηλά αρχικά επίπεδα των TG να διαδραμάτισαν κάποιο ρόλο στη σημαντική μεταβολή της συγκεκριμένης παραμέτρου στις ομάδες R και RE. Η μέση διάμετρος των LDL σωματιδίων αυξήθηκε μόνο στις ομάδες R και RF, ένα εύρημα που επίσης συμφωνεί με την υπάρχουσα βιβλιογραφία. Οι μειώσεις της VLDL-C και της sdLDL-C εμφάνισαν σημαντική και ανεξάρτητη συσχέτιση με την ελάττωση των επιπέδων των TG στην ομάδα RF, όπως και στην προαναφερόμενη μελέτη της δικής μας ερευνητικής ομάδας με τη φαινοφιμπράτη και την ορλιστάτη. Ωστόσο, στην ομάδα RE η ελάττωση της LDL-C ήταν ο μοναδικός παράγοντας που εμφάνισε ανεξάρτητη συσχέτιση με τις μεταβολές της VLDL-C και της sdLDL-C, ένα εύρημα που διαφέρει από τις άλλες μελέτες της εξετιμίμπης, στις οποίες η μείωση των TG ήταν ο σημαντικότερος ανεξάρτητος παράγοντας ελάττωσης της sdLDL-C. Μάλιστα, οι μειώσεις των επιπέδων της LDL-C και των TG στην ομάδα RE ήταν όμοιες (-21% και -22%, αντίστοιχα) και επομένως θα μπορούσαν να συμβάλουν εξίσου στη μεταβολή της συγκέντρωσης της sdLDL-C. Η απουσία συσχέτισης μεταξύ της μεταβολής των TG και των μειώσεων της VLDL-C και της sdLDL-C με τη χορήγηση εξετιμίμπης και rimonabant δεν είναι σαφής. Τέλος, δεν έχει αναφερθεί τέτοιου είδους συσχέτιση με τη χορήγηση rimonabant, δεδομένου ότι δεν έχει παρατηρηθεί σημαντική μεταβολή της LDL-C με το συγκεκριμένο φάρμακο.

7.5 Επίδραση στο φαινότυπο των HDL σωματιδίων

Στο τέλος της θεραπείας παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση των επιπέδων της χοληστερόλης των μεγάλων HDL σωματιδίων σε όλες τις ομάδες θεραπείας, με την αύξηση αυτή να είναι σημαντικά μεγαλύτερη στην ομάδα RF. Αντίθετα, η συγκέντρωση της χοληστερόλης των ενδιάμεσου μεγέθους HDL υποκλασμάτων αυξήθηκε σημαντικά

μόνο στην ομάδα RF. Τέλος, η συγκέντρωση της χοληστερόλης των μικρών HDL σωματιδίων ελαττώθηκε στις ομάδες R και RE, ενώ αυξήθηκε στην ομάδα RF.

Η απώλεια βάρους με μια δίαιτα χαμηλή σε λιπαρά έχει συσχετισθεί με αύξηση του αριθμού των μεγάλων HDL σωματιδίων σε υπέρβαρα άτομα με υπερλιπιδαιμία [609], ένα εύρημα που μπορεί να ερμηνεύσει, εν μέρει τουλάχιστον, την αύξηση των συγκεκριμένων υποκλασμάτων σε όλες τις ομάδες της μελέτης.

Η φαινοφιμπράτη, διαμέσου της ενεργοποίησης των PPAR α , οδηγεί στη δημιουργία νέων σωματιδίων HDL από το ήπαρ [235], με αποτέλεσμα την αύξηση της συγκέντρωσης της HDL-C. Η αύξηση αυτή αφορά κυρίως τα επίπεδα των μικρών HDL σωματιδίων [234, 610], δεδομένου ότι η φαινοφιμπράτη συμβάλλει στη μετατροπή των μεγάλων σε μικρότερα HDL σωματίδια διαμέσου ενίσχυσης της δραστηριότητας της ηπατικής λιπάσης [235, 606]. Ωστόσο, σε προηγούμενη μελέτη έχουμε περιγράψει σημαντική αύξηση τόσο των HDL2 όσο και των HDL3 υποκλασμάτων με τη χορήγηση φαινοφιμπράτης σε ασθενείς με υπερτριγλυκεριδαιμία [266].

Η αύξηση των επιπέδων των μικρών HDL υποκλασμάτων πιθανά έχει κάποια κλινική σημασία. Πράγματι, οι αντιαθηρογόνες ιδιότητες των HDL σωματιδίων αποδίδονται κυρίως στα συγκεκριμένα υποκλάσματα, τα οποία θεωρούνται πιο αποτελεσματικοί υποδοχείς της χοληστερόλης και διαθέτουν αντιοξειδωτικές ιδιότητες [27]. Ο Martin και συνεργάτες ανέλυσαν τα δεδομένα δύο προοπτικών μελετών, της μελέτης TRIUMPH στην οποία συμμετείχαν 2465 ασθενείς με οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου και της μελέτης IHCS στην οποία 2414 άτομα υποβλήθηκαν σε στεφανιογραφία, και έδειξαν ότι τα χαμηλά επίπεδα των HDL3 υποκλασμάτων συσχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών συμβαμάτων. Αντίθετα, δεν παρατηρήθηκε παρόμοια συσχέτιση για τα χαμηλά επίπεδα των HDL2 σωματιδίων ή της ολικής HDL-C [611]. Σε μία άλλη μελέτη (n=246) οι συγκεντρώσεις τόσο των HDL2 όσο και των HDL3 υποκλασμάτων συσχετίστηκαν με χαμηλότερο κίνδυνο εμφάνισης εμφράγματος του μυοκαρδίου. Ωστόσο, τα HDL3 σωματίδια ήταν ο ισχυρότερος προγνωστικός παράγοντας εμφάνισης εμφράγματος του μυοκαρδίου [612]. Επιπρόσθετα, στη μελέτη Bezafibrate Coronary Atherosclerosis Intervention Trial, μια αγγειογραφική μελέτη στην οποία συμμετείχαν άνδρες με ΣΝ και χαμηλά επίπεδα HDL-C, η αύξηση της συγκέντρωσης των μικρών HDL υποκλασμάτων (HDL3) που παρατηρήθηκε με τη χορήγηση μπεζαφιμπράτης εμφάνισε αρνητική συσχέτιση με την εξέλιξη των αγγειογραφικών βλαβών [31]. Τέλος, στη μελέτη Veterans Affairs High-Density Lipoprotein Cholesterol Intervention Trial (VA-HIT), η

θεραπεία με γεμφιβροζίλη οδήγησε σε ελάττωση των αγγειακών επεισοδίων, ένα γεγονός που συσχετίστηκε με την αύξηση των επιπέδων της HDL-C και ιδιαίτερα με την αύξηση του αριθμού των μικρών HDL σωματιδίων [30]. Αν και δεν έχουν δημοσιευθεί μελέτες με χορήγηση φαινοφιμπράτης με παρόμοιες συσχετίσεις, δεν μπορεί να αποκλεισθεί το ενδεχόμενο οι ευνοϊκές επιδράσεις του φαρμάκου να οφείλονται σε κάποιο βαθμό στην αύξηση των μικρών HDL υποκλασμάτων, αν λάβουμε υπόψη και το γεγονός ότι το μεγαλύτερο όφελος στις μελέτες της φαινοφιμπράτης έχει παρατηρηθεί σε ασθενείς με αθηρογόνο δυσλιπιδαιμία. Επιπλέον, τα θετικά αποτελέσματα των παραπάνω μελετών με δύο διαφορετικές φιβράτες υποδηλώνουν ότι τα ευρήματά τους πιθανά αφορούν όλες τις φιβράτες (class effect).

Σε αυτό το σημείο πρέπει να σημειωθεί ότι ορισμένα βιβλιογραφικά δεδομένα υποστηρίζουν ότι τα HDL2 υποκλάσματα είναι περισσότερο αντιαθηρογόνα και προστατευτικά σε σύγκριση με τα HDL3 σωματίδια. Σε μία παλαιότερη μελέτη (n=1799) τα επίπεδα της HDL-C και των HDL2 υποκλασμάτων εμφάνισαν σημαντική αρνητική συσχέτιση με τον κίνδυνο εμφάνισης οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου, ενώ η αντίστοιχη συσχέτιση με τα επίπεδα των HDL3 σωματιδίων δεν ήταν εξίσου σημαντική [613]. Σε μία μελέτη στην οποία συμμετείχαν άντρες <60 ετών (n=1169) η εμφάνιση ισχαιμικής καρδιοπάθειας συσχετίστηκε με την παρουσία χαμηλών επιπέδων HDL, HDL2 και HDL3 χοληστερόλης. Συγκεκριμένα, οι άνδρες με συγκέντρωση HDL2-C και HDL3-C στο ανώτερο τεταρτημόριο είχαν χαμηλότερο κίνδυνο εμφάνισης ισχαιμικής καρδιοπάθειας σε σύγκριση με τους συμμετέχοντες που είχαν επίπεδα HDL2-C και HDL3-C στο κατώτερο τεταρτημόριο [614]. Ωστόσο, σε πολυπαραγοντική ανάλυση μόνο τα HDL2 (και όχι τα HDL3) υποκλάσματα συνέβαλαν στον κίνδυνο εμφάνισης ισχαιμικής καρδιοπάθειας (standardized RR = 0.84; 95% CI, 0.74-0.95) [614], ένα εύρημα που υποδηλώνει ότι τα HDL2 σωματίδια πιθανά παρέχουν μεγαλύτερη προστασία ως προς τον κίνδυνο εμφάνισης ΣΝ. Επιπλέον, σε μία πρόσφατη μελέτη σε ασθενείς χωρίς ιστορικό ΑΕΕ (n=988) παρατηρήθηκε αρνητική συσχέτιση ανάμεσα στις συγκεντρώσεις της ολικής HDL-C και της HDL2-C με το cIMT, ενώ αντίθετα τα επίπεδα της HDL3-C δεν εμφάνισαν σημαντική συσχέτιση με το cIMT [615]. Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης επίσης συνηγορούν υπέρ μεγαλύτερης προστατευτικής δράσης των HDL2 έναντι των HDL3 υποκλασμάτων. Τέλος, σύμφωνα με μία σχετικά πρόσφατη ανασκόπηση του Rizzo και συνεργατών τα μεγαλύτερα HDL2 σωματίδια είναι περισσότερο προστατευτικά ως προς την εμφάνιση και την εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης [616]. Επομένως, η αύξηση των

επιπέδων της χοληστερόλης των μεγάλων HDL σωματιδίων η οποία παρατηρήθηκε σε όλες τις ομάδες θεραπείας στην παρούσα μελέτη ενδέχεται να είναι κλινικά σημαντική.

Οι αυξήσεις της συγκέντρωσης της χοληστερόλης όλων των HDL υποκλασμάτων στην ομάδα RF συσχετίστηκαν με τις μεταβολές της συγκέντρωσης της HDL-C και των TG κατά τη διάρκεια της θεραπείας. Πιθανά οι σημαντικές μεταβολές των παραπάνω λιπιδαιμικών παραμέτρων σε συνδυασμό με την απώλεια βάρους να ευθύνονται για την αύξηση των επιπέδων όλων (και όχι μόνο των μικρών) HDL υποκλασμάτων σε αυτή την ομάδα θεραπείας.

Η επίδραση της εξετιμίμπης στα υποκλάσματα των HDL έχει διερευνηθεί σε περιορισμένες μελέτες, στις οποίες βρέθηκε ότι η εξετιμίμπη ελαττώνει τα μικρά πυκνά HDL σωματίδια (HDL3), ενώ έχει ουδέτερη ή μικρή μόνο επίδραση στα μεγαλύτερα HDL υποκλάσματα (HDL2) [266, 617]. Συγκεκριμένα, σε μια μελέτη της δικής μας ερευνητικής ομάδας η χορήγηση εξετιμίμπης, καθώς και του συνδυασμού εξετιμίμπης/ορλιστάτης σε υπέρβαρους και παχύσαρκους ασθενείς με πρωτοπαθή υπερχοληστερολαιμία δεν επηρέασε τα επίπεδα των HDL2, ενώ οδήγησε σε σημαντική ελάττωση των HDL3 σωματιδίων [617]. Ομοίως, σε μια άλλη μελέτη μας η θεραπεία με εξετιμίμπη σε ασθενείς με δυσλιπιδαιμία τύπου ΙΙΑ συσχετίστηκε με μη σημαντική αύξηση των HDL2 και σημαντική ελάττωση των HDL3 υποκλασμάτων [266]. Μια πιθανή ερμηνεία αυτών των ευρημάτων είναι ότι η παρεμπόδιση της εντερικής απορρόφησης χοληστερόλης από τη χορήγηση εξετιμίμπης ελαττώνει το σχηματισμό των μικρότερων και πιο πυκνών HDL σωματιδίων, τα οποία παράγονται κατά ένα ποσοστό από το λεπτό έντερο [618, 619]. Οι παρατηρήσεις των παραπάνω μελετών γενικά συμφωνούν με τα αποτελέσματα της μελέτης μας. Η μοναδική διαφορά με τα δεδομένα της βιβλιογραφίας είναι ότι η αύξηση των HDL2 στην ομάδα RE ήταν σημαντική. Η απώλεια βάρους θα μπορούσε να συμβάλει στην αύξηση των HDL2. Ωστόσο, στην προαναφερόμενη μελέτη με την εξετιμίμπη και το συνδυασμό της με ορλιστάτη στην οποία οι ασθενείς εμφάνισαν σημαντική απώλεια βάρους, τα επίπεδα των HDL2 δεν μεταβλήθηκαν. Μια άλλη πιθανή ερμηνεία είναι ότι η συγχορήγηση του rimonabant με την εξετιμίμπη επηρέασε τη συγκεκριμένη παράμετρο, αφού και στην ομάδα της μονοθεραπείας (R) παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση των HDL2 υποκλασμάτων. Η μελέτη αυτή είναι η πρώτη που διερεύνησε την επίδραση του rimonabant στο φαινότυπο των HDL σωματιδίων, επομένως δεν υπάρχουν επαρκή βιβλιογραφικά δεδομένα για σύγκριση.

7.6 Επίδραση στην ενεργότητα της LpPLA₂ του πλάσματος και της LpPLA₂ που είναι συνδεδεμένη με τις HDL

Στη μελέτη μας παρατηρήθηκε σημαντική ελάττωση της ενεργότητας της LpPLA₂ του πλάσματος, καθώς και της non-HDL-LpPLA₂ στις ομάδες RE και RF, ενώ οι παράμετροι αυτές δεν μεταβλήθηκαν στους ασθενείς που έλαβαν μονοθεραπεία με rimonabant. Όπως ήδη αναφέρθηκε, το μεγαλύτερο ποσοστό της LpPLA₂ σχετίζεται κυρίως με τα LDL σωματίδια [481], ενώ στις περισσότερες μελέτες η ενεργότητα του ενζύμου στο πλάσμα βρέθηκε να έχει θετική συσχέτιση με τα επίπεδα της TC και της LDL-C, καθώς και με τις συγκεντρώσεις της apoB [485, 488-490]. Επομένως, τα αποτελέσματά μας όσον αφορά την ενεργότητα της LpPLA₂ του πλάσματος συνάδουν με το γεγονός ότι τα επίπεδα της LDL-C και της apoB ελαττώθηκαν σημαντικά μόνο στις ομάδες RE και RF. Ωστόσο, η συγκέντρωση της non-HDL-C ελαττώθηκε και στις 3 ομάδες, όμως η μείωση ήταν σημαντικά μεγαλύτερη στις δύο ομάδες που χρησιμοποιήθηκε συνδυασμός φαρμάκων σε σύγκριση με την ομάδα R, ένα εύρημα που δικαιολογεί τη σημαντική μεταβολή της non-HDL-LpPLA₂ μόνο στις συγκεκριμένες ομάδες.

Σε προηγούμενη μελέτη της ερευνητικής μας ομάδας η χορήγηση εξετιμίμπης συσχετίσθηκε με σημαντική ελάττωση της ενεργότητας της LpPLA₂ και της non-HDL-LpPLA₂ σε ασθενείς με δυσλιπιδαιμία τύπου ΙΙΑ [266]. Οι μεταβολές του λιπιδαιμικού προφίλ που παρατηρήθηκαν κατά τη θεραπεία με εξετιμίμπη αφορούσαν σε μείωση των επιπέδων της TC, της LDL-C και της non-HDL-C και επομένως, συμβαδίζουν με τις αντίστοιχες μεταβολές των ενεργοτήτων της LpPLA₂. Σε άλλη μελέτη μας ο συνδυασμός της εξετιμίμπης με ορλιστάτη οδήγησε σε σημαντική μείωση της ενεργότητας της LpPLA₂ του πλάσματος σε υπέρβαρους και παχύσαρκους ασθενείς με υπερχοληστερολαιμία [369]. Τα παραπάνω ευρήματα συμφωνούν με τα αποτελέσματα της ομάδας RE.

Η θεραπεία με φαινοφιμπράτη σε ασθενείς με υπερτριγλυκεριδαιμία έχει συσχετισθεί με σημαντικές μειώσεις της ενεργότητας της LpPLA₂ και της non-HDL-LpPLA₂. Οι μεταβολές αυτές συνάδουν με την ελάττωση των VLDL και των sdLDL σωματιδίων που παρατηρήθηκαν με τη χορήγηση φαινοφιμπράτης [266] και συμφωνούν με τα αποτελέσματα που παρατηρήθηκαν στην ομάδα RF.

Επιπρόσθετα, έχουμε δείξει ότι η ενεργότητα του ενζύμου κατανέμεται κυρίως στα sdLDL υποκλάσματα [465] και ότι αποτελεί δείκτη της συγκέντρωσης των sdLDL σωματιδίων στο πλάσμα [620]. Οι μειώσεις της ενεργότητας της LpPLA₂ και της non-HDL-LpPLA₂ συμβαδίζουν με την ελάττωση της sdLDL-C στις ομάδες RE και RF, αν και στην

πολυπαραγοντική ανάλυση δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ των παραπάνω μεταβολών. Ωστόσο, στην ομάδα R στην οποία παρατηρήθηκε ελάττωση των sdLDL σωματιδίων δεν μεταβλήθηκαν οι ενεργότητες της LpPLA₂ και της non-HDL-LpPLA₂ του πλάσματος. Πιθανά η απουσία μεταβολής της συγκέντρωσης της LDL-C με το rimonabant να ευθύνεται για αυτά τα αποτελέσματα.

Η επίδραση της απώλειας βάρους στην ενεργότητα της LpPLA₂ δεν έχει μελετηθεί διεξοδικά. Σε μία μικρή μελέτη της ερευνητικής μας ομάδας δείξαμε ότι η απώλεια βάρους με υποθερμιδική υπολιπιδαιμική δίαιτα μειώνει την ενεργότητα της LpPLA₂ σε υγιείς παχύσαρκες γυναίκες, κυρίως διαμέσου μείωσης της VLDL-C [621]. Η σχετιζόμενη με την απώλεια βάρους μείωση της VLDL-C στις ομάδες RE και RF θα μπορούσε να συμβάλει στη μείωση της ενεργότητας της LpPLA₂. Ωστόσο, στην ομάδα R στην οποία επίσης παρατηρήθηκε ελάττωση της VLDL-C και η απώλεια βάρους ήταν παρόμοια με τις άλλες δύο ομάδες, η ενεργότητα της LpPLA₂ παρέμεινε αμετάβλητη. Επιπλέον, δεν βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ της ελάττωσης της ενεργότητας της LpPLA₂ και των μεταβολών των σωματομετρικών παραμέτρων στις ομάδες RE και RF. Επομένως, στη μελέτη μας η απώλεια βάρους πιθανά δεν συνέβαλε στη μείωση της ενεργότητας της LpPLA₂. Τέλος, φαίνεται ότι το rimonabant δεν έχει επίδραση στη συγκεκριμένη παράμετρο, σε αντίθεση με την εξετιμίμπη και τη φαινοφιμπράτη.

Όπως ήδη αναφέρθηκε, μεγάλες επιδημιολογικές μελέτες έδειξαν θετική συσχέτιση μεταξύ της ενεργότητας της Lp-PLA₂ και του κινδύνου εμφάνισης αθηροσκληρωτικών επεισοδίων [491-494, 622, 623], ενώ το ένζυμο αυτό αποτελεί παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου [624]. Επομένως, θα μπορούσε να υποθεθεί ότι η μείωση της ενεργότητας της Lp-PLA₂ με τους συνδυασμούς rimonabant/εξετιμίμπης και rimonabant/φαινοφιμπράτης έχει κλινική σημασία. Ωστόσο, πρόσφατες μελέτες στις οποίες χορηγήθηκαν αναστολείς της Lp-PLA₂ δεν έδειξαν καρδιαγγειακό όφελος [503]. Κατά συνέπεια, η πραγματική αξία των ευρημάτων αυτών δεν είναι σαφής.

Η ενεργότητα της LpPLA₂ που είναι συνδεδεμένη με τις HDL αυξήθηκε σημαντικά μόνο στην ομάδα RF, ένα εύρημα που πιθανά σχετίζεται με την σημαντικά μεγαλύτερη αύξηση των επιπέδων της HDL-C με τη συγκεκριμένη θεραπεία έναντι των άλλων δύο θεραπευτικών ομάδων. Σε ασθενείς με υπερτριγλυκεριδαιμία οι οποίοι έλαβαν φαινοφιμπράτη (στη μελέτη που αναφέρθηκε παραπάνω) παρατηρήθηκε αύξηση της ενεργότητας της HDL-LpPLA₂ παράλληλα με την αύξηση της συγκέντρωσης της HDL-C [266].

Προηγούμενη μελέτη της ερευνητικής μας ομάδας έδειξε ότι η αύξηση της ενεργότητας της HDL-LpPLA₂ με τη φαινοφιμπράτη πιθανά οφείλεται στην αποδέσμευση του ενζύμου από τις πλούσιες σε TG λιποπρωτεΐνες προς τα HDL σωματίδια, διαμέσου αύξησης της δραστηριότητας της ηπατικής λιπάσης [247]. Υπάρχουν ενδείξεις ότι η HDL-LpPLA₂ έχει αντιαθηροσκληρωτικές δράσεις [481], ένα γεγονός που υποδηλώνει πιθανή αντιαθηρογόνο επίδραση του συνδυασμού rimonabant/φαινοφιμπράτης.

Όσον αφορά την επίδραση της εξετιμίμπης στην ενεργότητα της HDL-LpPLA₂, στην προαναφερόμενη μελέτη της ομάδας μας στους ασθενείς με δυσλιπιδαιμία τύπου ΙΙΑ η χορήγηση εξετιμίμπης συσχετίστηκε με σημαντική ελάττωση της ενεργότητας της HDL-LpPLA₂ [266], ένα εύρημα που μπορεί να αποδοθεί στη μείωση της συγκέντρωσης της HDL-C στη συγκεκριμένη μελέτη. Ομοίως, η χορήγηση εξετιμίμπης, ως μονοθεραπείας ή σε συνδυασμό με ορλιστάτη, οδήγησε σε ελάττωση της ενεργότητας της HDL-LpPLA₂ (αν και μη σημαντική) σε υπέρβαρους και παχύσαρκους ασθενείς με υπερχοληστερολαιμία [617]. Αντίθετα, στην ομάδα RE στη μελέτη μας, στην οποία υπήρχε μια μικρή μη σημαντική ελάττωση της HDL-C, δεν παρατηρήθηκε μείωση της ενεργότητας της HDL-LpPLA₂. Δεν είναι σαφές αν το rimonabant επηρέασε την επίδραση της εξετιμίμπης στη συγκεκριμένη παράμετρο.

7.7 Επίδραση στην ενεργότητα της PON1

Παρατηρήθηκε σημαντική ελάττωση στην ενεργότητα της PON1 έναντι του paraoxon στην ομάδα RF, ενώ δεν υπήρξε σημαντική μεταβολή στις άλλες δύο ομάδες. Αντίθετα, η ενεργότητα της PON1 έναντι του phenylacetate αυξήθηκε σημαντικά στις ομάδες R και RE και παρουσίασε μια μη σημαντική ελάττωση στην ομάδα RF. Η PON1 αποτελεί μία εστεράση, η οποία στο πλάσμα συσχετίζεται με τα HDL σωματίδια [463, 516, 606]. Η μείωση της ενεργότητας της PON1 στην ομάδα RF δεν είναι εύκολο να ερμηνευθεί, αν λάβουμε υπόψη τη σημαντική αύξηση που παρατηρήθηκε στα επίπεδα της HDL-C και ιδιαίτερα στα HDL₃ σωματίδια με το συνδυασμό rimonabant/φαινοφιμπράτης, δεδομένου ότι η PON1 εκφράζεται κατά κύριο λόγο στα μικρά πυκνά HDL υποκλάσματα [625]. Πιθανά αποτελεί ένα τυχαίο εύρημα στα πλαίσια του μικρού αριθμού ασθενών που συμμετείχαν στη μελέτη. Γενικότερα όμως δεν υπάρχει ομοφωνία μεταξύ των μελετών όσον αφορά την επίδραση της φαινοφιμπράτης στην ενεργότητα της PON1. Πράγματι, έχει αναφερθεί αύξηση της ενεργότητας της PON1 σε ασθενείς με δυσλιπιδαιμία, ΣΔ2 ή

ΣΝ που πήραν φαινοφιμπράτη [263-265], ενώ σε ασθενείς με υπερλιπιδαιμία τύπου ΙΙΑ, ΙΙΒ και ΙV η φαινοφιμπράτη δεν επηρέασε σημαντικά την ενεργότητα της PON1 [247].

Η συγκεκριμένη μελέτη είναι η μοναδική η οποία διερεύνησε την επίδραση του rimonabant στην ενεργότητα της PON1, ενώ λίγα δεδομένα υπάρχουν για την επίδραση της εξετιμίμπης σε αυτή την παράμετρο. Συγκεκριμένα, σε μια μελέτη η εξετιμίμπη αύξησε την ενεργότητα της PON1 σε υπέρβαρους και παχύσαρκους ασθενείς με υπερλιπιδαιμία, ενώ σε μία άλλη μελέτη σε παρόμοιο πληθυσμό το εύρημα αυτό δεν επιβεβαιώθηκε [546]. Η αύξηση της ενεργότητας της PON1 έναντι του phenylacetate στις ομάδες R και RE ενδεχόμενα έχει κλινική σημασία, δεδομένου ότι η PON1 αναστέλλει την οξειδωση της LDL και επομένως την εμφάνιση των αρνητικών επιδράσεων της οξειδωμένης LDL [463, 625, 626].

Ο λόγος PON1 (paraoxon)/LDL-C δεν παρουσίασε σημαντική μεταβολή σε καμία από τις 3 ομάδες. Αντίθετα, ο λόγος PON1 (phenylacetate)/LDL-C αυξήθηκε σημαντικά στις ομάδες R και RE. Η αύξηση αυτή ενδέχεται να αντικατοπτρίζει μία αυξημένη προστατευτική δράση των HDL σωματιδίων έναντι της οξειδωσης των LDL. Η κλινική σημασία ενός τέτοιου ηλικίου εκτιμήθηκε σε μία μελέτη, η οποία έδειξε ότι το ηλικίο της ενεργότητας της HDL-LpPLA₂/LDL-C ήταν μικρότερο σε ασθενείς με ασταθή στηθάγχη, σε σύγκριση με υγιή άτομα [627].

7.8 Επίδραση στα επίπεδα των αδιποκινών

7.8.1 Επίδραση στα επίπεδα της λεπτίνης

Στην παρούσα μελέτη παρατηρήθηκε σημαντική ελάττωση των επιπέδων της λεπτίνης και στις 3 ομάδες θεραπείας, χωρίς να υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των 3 ομάδων. Αν λάβουμε υπόψη ότι τα επίπεδα της λεπτίνης στο πλάσμα αποτελούν δείκτη του συνολικού λίπους του σώματος [628], μπορούμε να υποθέσουμε ότι η απώλεια βάρους ευθύνεται, εν μέρει τουλάχιστον, για τη μείωση των επιπέδων της λεπτίνης. Πράγματι, η ελάττωση των επιπέδων της λεπτίνης συσχετίστηκε θετικά, αν και όχι στατιστικά σημαντικά, με την ελάττωση του ΣΒ σε όλες τις ομάδες της μελέτης μας.

Επιπρόσθετα, τα επίπεδα της λεπτίνης παρουσιάζουν θετική συσχέτιση με τα επίπεδα των TG [629]. Θα μπορούσαμε να υποθέσουμε ότι οι μεταβολές των TG επηρέασαν τις μεταβολές της λεπτίνης. Ωστόσο, στην ομάδα RF στην οποία παρατηρήθηκε μεγαλύτερη ελάττωση των TG σε σύγκριση με τις άλλες δύο ομάδες, δεν παρατηρήθηκε μεγαλύτερη

ελάττωση των επιπέδων της λεπτίνης. Επιπρόσθετα, δεν παρατηρήθηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ των μεταβολών αυτών των παραμέτρων.

Η χορήγηση του rimonabant έχει συσχετισθεί με ελάττωση των επιπέδων της λεπτίνης τόσο σε πειραματικά μοντέλα όσο και σε κλινικές μελέτες [211, 214, 630]. Όπως ήδη αναφέρθηκε, στις μελέτες RIO-Lipids και SERENADE παρατηρήθηκε σημαντική μείωση των επιπέδων της λεπτίνης σε σύγκριση με τα αρχικά επίπεδα και έναντι του εικονικού φαρμάκου [211, 214]. Οι μεταβολές στις παραπάνω μελέτες ήταν αντίστοιχες με τις μεταβολές της δικής μας μελέτης.

Η χορήγηση της φαινοφιμπράτη δεν φαίνεται ότι επηρέασε τα επίπεδα της λεπτίνης στην παρούσα μελέτη, δεδομένου ότι οι μεταβολές της λεπτίνης στις ομάδες RF και R ήταν παρόμοιες (40% και 38%, αντίστοιχα). Ωστόσο, η χορήγηση φαινοφιμπράτης έχει συσχετισθεί με ελάττωση της απελευθέρωσης της λεπτίνης από το λιπώδη ιστό νορμολιπιδαιμικών ατόμων και ασθενών με μικτή δυσλιπιδαιμία [631], καθώς και με μείωση της λεπτίνης σε ασθενείς με μικτή δυσλιπιδαιμία και διαταραχή γλυκόζης νηστείας [632] και σε ασθενείς με ΣΔ και υπερτριγλυκεριδαιμία [633]. Το εύρημα αυτό πιθανά οφείλεται στη βελτίωση του γλυκαιμικού ελέγχου και την ελάττωση των TG από τη φαινοφιμπράτη στις παραπάνω μελέτες [632, 633]. Στη μελέτη μας οι ασθενείς δεν είχαν ΣΔ ή προδιαβήτη και επομένως δεν μπορεί να γίνει άμεση σύγκριση μεταξύ των μελετών.

Η επίδραση της εξετιμίμπης στα επίπεδα της λεπτίνης διαφέρει μεταξύ των διαφόρων μελετών. Ο Krysiaik και συν μελέτησαν την επίδραση της σιμβαστατίνης, της εξετιμίμπης και του συνδυασμού τους στα επίπεδα των αδιποκινών σε ασθενείς με υπερχοληστερολαιμία και έδειξαν ελάττωση της λεπτίνης και με τις 3 θεραπείες. Ωστόσο, οι μεταβολές ήταν μικρότερες και λιγότερο σημαντικές με τη μονοθεραπεία με εξετιμίμπη [634-637]. Επιπρόσθετα, η προσθήκη εξετιμίμπης σε αγωγή με στατίνη δεν επηρέασε τα επίπεδα της λεπτίνης σε ασθενείς με μεταβολικό σύνδρομο και σταθερή αγγειακή νόσο [638], ενώ η χορήγηση εξετιμίμπης, ως μονοθεραπεία ή σε συνδυασμό με σιμβαστατίνη δεν είχε επίδραση στη συγκέντρωση της λεπτίνης σε υγιείς άνδρες [639]. Στην παρούσα μελέτη η ελάττωση της λεπτίνης ήταν ποσοστιαία μεγαλύτερη στην ομάδα RE, ωστόσο η μεταβολή αυτή δεν διέφερε σημαντικά από τις αντίστοιχες μεταβολές στις άλλες 2 ομάδες. Επομένως, η επίδραση της εξετιμίμπης στη λεπτίνη μπορεί να θεωρηθεί ουδέτερη και οι μεταβολές των επιπέδων της και στις 3 ομάδες να αποδοθούν στο rimonabant.

7.8.2 Επίδραση στα επίπεδα της αδιπονεκτίνης

Δεν παρατηρήθηκε σημαντική μεταβολή στα επίπεδα της ολικής αδιπονεκτίνης σε καμία από τις 3 ομάδες. Αντίθετα, στη μελέτη Rio-Lipids παρατηρήθηκε αύξηση της αδιπονεκτίνης κατά 58% με τη χορήγηση rimonabant, η οποία αποδόθηκε μόνο κατά 43% στην απώλεια βάρους, ενώ επίσης συσχετίστηκε με την αύξηση των επιπέδων της HDL-C και της ApoA1 [211]. Ομοίως, στις μελέτες SERENADE [214] και ADAGIO-Lipids [216] τα επίπεδα της αδιπονεκτίνης αυξήθηκαν στην ομάδα του rimonabant (+29%, $p=0.0001$ και +23%, $p<0.0001$ έναντι του εικονικού φαρμάκου, αντίστοιχα) και οι μεταβολές αυτές αποδόθηκαν στην ελάττωση του ΣΒ και την αύξηση της HDL-C και της ApoA1.

Υπάρχουν ορισμένες πιθανές ερμηνείες για τις διαφορές στα αποτελέσματα ανάμεσα στη δική μας και τις παραπάνω μελέτες. Τα επίπεδα της HDL-C στην ομάδα R παρουσίασαν μικρότερη αύξηση σε σύγκριση την αύξηση που παρατηρήθηκε στις παραπάνω μελέτες, ένα εύρημα που μπορεί να οφείλεται τόσο στο περιορισμένο χρονικό διάστημα της θεραπευτικής αγωγής, όσο και στην ταυτόχρονη έναρξη της διαιτητικής παρέμβασης. Πράγματι, η συγκέντρωση της HDL-C συχνά ελαττώνεται στην αρχική φάση μιας υποθερμιδικής διαίτας, ένα εύρημα το οποίο παρατηρήθηκε και στην αρχική περίοδο των 4 εβδομάδων πριν την έναρξη της θεραπείας στις μελέτες RIO [302, 601], καθώς και σε άλλες μελέτες [369, 640].

Τα αμετάβλητα επίπεδα της HDL-C στην ομάδα RE πιθανά οφείλονται στον ίδιο λόγο. Όσον αφορά την επίδραση της εξετιμίμπης στα επίπεδα της αδιπονεκτίνης, τα αποτελέσματα των διαφόρων μελετών ποικίλουν, με τις περισσότερες από αυτές να δείχνουν ουδέτερη ή αρνητική επίδραση [638, 639] και άλλες μικρή μόνο αύξηση των επιπέδων της αδιπονεκτίνης [634-637].

Η επίδραση της φαινοφιμπράτης στην αδιπονεκτίνη αρχικά μελετήθηκε σε πειραματικά μοντέλα, όπου φάνηκε ότι επάγει την έκφραση του mRNA της συγκεκριμένης αδιποκίνης [641, 642]. Στη συνέχεια βρέθηκε ότι η φαινοφιμπράτη αυξάνει τα επίπεδα της αδιπονεκτίνης σε ασθενείς με υπερτριγλυκεριδαιμία [643, 644], καθώς και σε ασθενείς με μικτή δυσλιπιδαιμία και διαταραχή γλυκόζης νηστείας [632]. Μάλιστα σε ορισμένες από αυτές τις μελέτες δεν παρατηρήθηκε μεταβολή του ΣΒ των ασθενών, ένα εύρημα που υποδηλώνει άμεση επίδραση του φαρμάκου στην αδιπονεκτίνη. Δεν είναι σαφές γιατί δεν παρατηρήθηκε αύξηση της αδιπονεκτίνης στην ομάδα RF, δεδομένης της απώλειας βάρους και της σημαντικής αύξησης της HDL-C και της ApoA1 στη συγκεκριμένη ομάδα.

Η μελέτη αυτή είναι η πρώτη που διερεύνησε την επίδραση του rimonabant στην υψηλού MB αδιπονεκτίνη. Παρατηρήθηκε μια τάση αύξησης της συγκέντρωσης της υψηλού MB αδιπονεκτίνης στις ομάδες R και RF σε σύγκριση με τα αρχικά επίπεδα. Δεδομένου ότι τα επίπεδα της υψηλού MB αδιπονεκτίνης έχουν συσχετισθεί αντιστρόφως ανάλογα με το BMI [639], θα μπορούσε να υποτεθεί ότι το εύρημα αυτό οφείλεται στην απώλεια βάρους και την ελάττωση του BMI. Ωστόσο, φαίνεται ότι ο υποκείμενος μηχανισμός δεν είναι μόνο η απώλεια βάρους, δεδομένου ότι στην ομάδα RE δεν παρατηρήθηκε μεταβολή των επιπέδων της υψηλού MB αδιπονεκτίνης, ενώ η απώλεια βάρους ήταν αντίστοιχη με αυτή των άλλων δύο ομάδων. Επιπλέον, δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση μεταξύ της αύξησης της υψηλού MB αδιπονεκτίνης και των μεταβολών των σωματομετρικών παραμέτρων στις ομάδες R και RF.

Η επίδραση της φαινοφιμπράτης στην υψηλού MB αδιπονεκτίνη έχει διερευνηθεί σε μία ακόμα μελέτη. Στη μελέτη αυτή η χορήγηση φαινοφιμπράτης για 3 μήνες σε ασθενείς με υπερτριγλυκεριδαιμία οδήγησε σε μία κατά 12% αύξηση στα επίπεδα της υψηλού MB αδιπονεκτίνης ($p < 0.05$), ενώ αντίθετα δεν μεταβλήθηκαν τα επίπεδα της ολικής αδιπονεκτίνης [600], ένα εύρημα συμβατό με τα ευρήματα της δικής μας μελέτης.

Τέλος, στην παρούσα μελέτη παρατηρήθηκε μια αυξητική τάση στο λόγο υψηλού MB/ολική αδιπονεκτίνη στην ομάδα RF. Ο λόγος αυτός παρουσίασε σημαντική αύξηση στην ομάδα R, ενώ δεν παρουσίασε σημαντική μεταβολή στην ομάδα RE. Οι μεταβολές αυτές προφανώς αντανακλούν τις αντίστοιχες μεταβολές στη συγκέντρωση της υψηλού MB αδιπονεκτίνης στις 3 ομάδες θεραπείας. Ωστόσο, η αύξηση αυτή ήταν στατιστικά σημαντική μόνο στην ομάδα R και όχι στην ομάδα RF. Η διαφορά αυτή θα μπορούσε να αποδοθεί στο μικρό αριθμό ασθενών της μελέτης ή να αποτελεί τυχαίο εύρημα.

7.8.3 Επίδραση στα επίπεδα της βισφατίνης

Τα επίπεδα της βισφατίνης ελαττώθηκαν σημαντικά μόνο στις ομάδες RE και RF. Η συγκεκριμένη μελέτη είναι η πρώτη που διερεύνησε την επίδραση του rimonabant στα επίπεδα της βισφατίνης. Δεδομένου ότι ελάττωση της βισφατίνης παρατηρήθηκε μόνο στις ομάδες της συνδυασμένης θεραπείας, αυτή μπορεί να αποδοθεί στην εξετιμίμπη (στην ομάδα RE) και στη φαινοφιμπράτη (στην ομάδα RF).

Ωστόσο, σε προηγούμενη μελέτη της ερευνητικής μας ομάδας η χορήγηση εξετιμίμπης ως μονοθεραπεία ή σε συνδυασμό με ατορβαστατίνη δεν συσχετίστηκε με μεταβολή της συγκέντρωσης της βισφατίνης [645]. Η διαφορά αυτή πιθανά οφείλεται στους

διαφορετικούς πληθυσμούς των δύο μελετών. Στη δική μας μελέτη οι ασθενείς ήταν παχύσαρκοι και είχαν χειρότερο λιπιδαιμικό προφίλ (υψηλότερα επίπεδα TC και TG και χαμηλότερα επίπεδα HDL-C) σε σύγκριση με τους ασθενείς της προαναφερόμενης μελέτης. Ωστόσο, στις μελέτες του Krysiak που ήδη αναφέρθηκαν, η χορήγηση εξετιμίμπης ως μονοθεραπεία και σε συνδυασμό με σιμβαστατίνη οδήγησε σε ελάττωση των επιπέδων της βισφατίνης [634-637].

Τα δεδομένα που αφορούν την επίδραση της φαινοφιμπράτης στα επίπεδα της βισφατίνης είναι αντικρουόμενα. Σε μία μελέτη η χορήγηση φαινοφιμπράτης για 3 μήνες σε 11 άνδρες με υπερτριγλυκεριδαιμία δεν προκάλεσε σημαντική μεταβολή των επιπέδων της βισφατίνης στο πλάσμα [600]. Ωστόσο, σε μια πειραματική μελέτη παρατηρήθηκε αύξηση της έκφρασης του mRNA της βισφατίνης σε σπλαγχνικά λιποκύτταρα διαβητικών ποντικών που πήραν φαινοφιμπράτη [641]. Αυτή η αντίθεση μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι η δόση της φαινοφιμπράτης ανά kg σωματικού βάρους που δόθηκε στα ποντίκια ήταν πολύ υψηλότερη σε σύγκριση με τη δόση που χορηγείται στον άνθρωπο. Επιπρόσθετα, τα αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν ότι οι αγωνιστές των PPAR- α υποδοχέων πιθανά δεν είναι ισχυροί ρυθμιστές της έκφρασης και της συγκέντρωσης της βισφατίνης *in vivo*.

Ασαφής παραμένει επίσης η επίδραση της απώλειας βάρους στα επίπεδα της βισφατίνης. Σε μία μελέτη σε 80 παχύσαρκους μη διαβητικούς ασθενείς που ακολούθησαν υποθερμιδική δίαιτα για 3 μήνες παρατηρήθηκε σημαντική βελτίωση των ανθρωπομετρικών και λιπιδαιμικών παραμέτρων και του μεταβολισμού των υδατανθράκων, καθώς και ελάττωση των επιπέδων της βισφατίνης [646]. Επιπρόσθετα, σε άλλη μελέτη η μαζική απώλεια βάρους με γαστρική περίδεση οδήγησε σε σημαντική μείωση των επιπέδων της βισφατίνης [647]. Αντίθετα, τα επίπεδα της βισφατίνης δεν μεταβλήθηκαν σε γυναίκες με νοσογόνο παχυσαρκία μετά από μαζική απώλεια βάρους [648]. Μάλιστα, σε μια άλλη έρευνα η βισφατίνη αυξήθηκε μετά από μαζική απώλεια βάρους μετά από γαστροπλαστική σε γυναίκες με νοσογόνο παχυσαρκία [649]. Συμπερασματικά, η βισφατίνη δεν μεταβάλλεται ομοιόμορφα σε όλους τους ασθενείς σε περιπτώσεις απώλειας βάρους, ένα εύρημα που υποδεικνύει ότι η λιπώδης μάζα και η ευαισθησία στη δράση της ινσουλίνης δεν αποτελούν τους μοναδικούς παράγοντες που επηρεάζουν τα επίπεδα αυτής της αδιποκίνης. Πράγματι, και στη δική μας μελέτη παρατηρήθηκαν διαφορές στη μεταβολή των επιπέδων της βισφατίνης μεταξύ των ομάδων, ενώ η απώλεια βάρους ήταν παρόμοια σε όλες τις ομάδες.

Δεδομένης της πιθανής φλεγμονώδους δράσης της βισφατίνης και της συσχέτισής της με την αθηροσκληρωτική διαδικασία, τη δυσλειτουργία του ενδοθηλίου και τη ΣΝ [583, 595, 650], η μείωση των επιπέδων της στις ομάδες RE και RF ενδεχόμενα είναι κλινικά σημαντική.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα μελέτη η χορήγηση rimonabant ως μονοθεραπεία και σε συνδυασμό με εξετιμίμπη και φαινοφιμπράτη οδήγησε σε σημαντική βελτίωση των ανθρωπομετρικών παραμέτρων σε υπέρβαρους και παχύσαρκους ασθενείς με αθηρογόνο δυσλιπιδαιμία. Επιπρόσθετα, συνολικά παρατηρήθηκε βελτίωση του λιπιδαιμικού προφίλ, καθώς και της λειτουργικότητας του λιπώδη ιστού, όπως αυτή εκτιμήθηκε με τις μεταβολές των αδιποκινών, και στις 3 ομάδες θεραπείας. Ωστόσο, οι σημαντικότερες μεταβολές παρατηρήθηκαν με το συνδυασμό rimonabant/φαινοφιμπράτης. Κατά τη διάρκεια της μελέτης δεν παρατηρήθηκε αυξημένη επίπτωση παρενεργειών σε καμία από τις ομάδες. Ιδανικά απαιτούνται διπλές-τυφλές, ελεγχόμενες με εικονικό φάρμακο μελέτες, με μεγαλύτερη διάρκεια και μεγαλύτερους αριθμούς ασθενών, ώστε να εκτιμηθεί η επίδραση των επιμέρους θεραπειών στα καρδιαγγειακά συμβάματα.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: Η παχυσαρκία συχνά συνυπάρχει με διαταραχές του μεταβολισμού των λιπιδίων. Οι παχύσαρκοι ασθενείς με δυσλιπιδαιμία έχουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου.

Σκοπός: Στην παρούσα μελέτη εκτιμήθηκε σε υπέρβαρους και παχύσαρκους ασθενείς [δείκτης μάζας σώματος (body mass index; BMI) = 27-40 kg/m²] με αθηρογόνο δυσλιπιδαιμία [τριγλυκερίδια (TG) = 150-700 mg/dL και λόγος ολικής χοληστερόλης (total cholesterol;TC)/χοληστερόλη των υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών (high density lipoprotein cholesterol; HDL-C) >5 στους άντρες και >4,5 στις γυναίκες] η επίδραση του rimonabant ως μονοθεραπεία και σε συνδυασμό με φαινοφιμπράτη ή εξετιμίμπη στις ανθρωπομετρικές και μεταβολικές παραμέτρους του ορού, το φαινότυπο των LDL και HDL σωματιδίων και τις ενεργότητες ενζύμων που σχετίζονται με την αθηροσκλήρωση.

Υλικό-Μέθοδοι: Στη μελέτη συμμετείχαν 60 ασθενείς. Οι ασθενείς έλαβαν υποθερμιδική διαίτα και στη συνέχεια τυχαιοποιήθηκαν σε rimonabant (R) 20 mg την ημέρα (20 ασθενείς), συνδυασμό rimonabant/φαινοφιμπράτης (RF) 20/160 mg την ημέρα (20 ασθενείς) ή συνδυασμό rimonabant/εξετιμίμπης (RE) 20/10 mg την ημέρα (20 ασθενείς). Πριν την έναρξη της αγωγής και μετά από 3 μήνες θεραπείας εκτιμήθηκαν τα σωματομετρικά στοιχεία και προσδιορίστηκαν οι μεταβολικές παράμετροι στον ορό των ασθενών.

Αποτελέσματα: Από τους 60 ασθενείς που συμμετείχαν, 4 δεν ολοκλήρωσαν τη μελέτη. Η αρτηριακή πίεση, ο BMI, το σωματικό βάρος, η περίμετρος μέσης, η TC, η non-HDL-C, τα TG και ο λόγος TC/HDL-C μειώθηκαν σημαντικά σε όλες τις ομάδες μετά από 3 μήνες αγωγής. Η ελάττωση των TG και του λόγου TC/HDL-C ήταν σημαντικά μεγαλύτερη στην ομάδα RF (p<0.05), ενώ η μείωση της non-HDL-C ήταν σημαντικά μεγαλύτερη στις δύο ομάδες στις οποίες χρησιμοποιήθηκαν συνδυασμοί φαρμάκων έναντι της ομάδας της μονοθεραπείας (p<0.05). Τα επίπεδα της χοληστερόλης των χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών (low-density lipoprotein cholesterol; LDL-C) και της απολιποπρωτεΐνης Β ελαττώθηκαν σημαντικά μόνο στις ομάδες RF και RE. Η συγκέντρωση της HDL-C αυξήθηκε στις ομάδες R και RF, με την αύξηση αυτή να είναι σημαντικά μεγαλύτερη στην ομάδα RF (p<0.05), ενώ δεν παρουσίασε σημαντική μεταβολή στην ομάδα RE. Ωστόσο, τα επίπεδα της apoA1 αυξήθηκαν μόνο στην ομάδα RF. Η χοληστερόλη των πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών (very low-density lipoprotein cholesterol; VLDL-C) και η χοληστερόλη των μικρών, πυκνών LDL σωματιδίων (small, dense LDL-C; sdLDL-

C) μειώθηκαν σημαντικά σε όλες τις ομάδες, με τις μεταβολές αυτές να είναι μεγαλύτερες στην ομάδα RF ($p < 0.05$). Επιπρόσθετα, παρατηρήθηκε σημαντική όμοια ελάττωση της ποσοστιαίας αναλογίας των sdLDL σωματιδίων επί του συνόλου των LDL σωματιδίων και στις 3 ομάδες θεραπείας. Τέλος, στις ομάδες R και RF παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση της μέσης διαμέτρου των LDL σωματιδίων σε σύγκριση με τα αρχικά επίπεδα. Με τη χρήση της πολυπαραγοντικής ανάλυσης βρέθηκε ότι οι μειώσεις της VLDL-C και της sdLDL-C συσχετίζονταν ανεξάρτητα με τη μείωση των TG στην ομάδα RF και με την ελάττωση της LDL-C στην ομάδα RE. Στο τέλος της θεραπείας παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση των επιπέδων της χοληστερόλης των μεγάλων HDL σωματιδίων σε όλες τις ομάδες θεραπείας, με την αύξηση αυτή να είναι σημαντικά μεγαλύτερη στην ομάδα RF ($p < 0.05$). Η συγκέντρωση της χοληστερόλης των ενδιάμεσου μεγέθους HDL υποκλασμάτων αυξήθηκε σημαντικά μόνο στην ομάδα RF και η μεταβολή αυτή ήταν σημαντικά μεγαλύτερη σε σύγκριση με τις άλλες δύο ομάδες θεραπείας ($p < 0.05$). Η συγκέντρωση της χοληστερόλης των μικρών HDL σωματιδίων ελαττώθηκε στις ομάδες R και RE, ενώ αυξήθηκε στην ομάδα RF. Οι αυξήσεις της συγκέντρωσης της χοληστερόλης όλων των HDL υποκλασμάτων στην ομάδα RF συσχετίζονταν με τις μεταβολές της συγκέντρωσης της HDL-C και των TG κατά τη διάρκεια της θεραπείας. Αντίθετα, στις ομάδες R και RE δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ των μεταβολών της χοληστερόλης των μεγάλων και των μικρών HDL υποκλασμάτων με τις λιπιδαιμικές ή άλλες παραμέτρους ή με τις αντίστοιχες μεταβολές τους κατά τη διάρκεια της μελέτης. Η ενεργότητα της συνδεδεμένης με λιποπρωτεΐνες φωσφολιπάσης A₂ (lipoprotein associated phospholipase A₂; LpPLA₂) του πλάσματος, καθώς και η ενεργότητα του ενζύμου που δεν είναι συνδεδεμένη με τις HDL (non-HDL-LpPLA₂) ελαττώθηκαν σημαντικά στις ομάδες RE και RF. Από την άλλη, η ενεργότητα της LpPLA₂ που είναι συνδεδεμένη με τις HDL αυξήθηκε σημαντικά μόνο στην ομάδα RF. Σημαντική ελάττωση στην ενεργότητα της παραοξονάσης 1 (paraoxonase 1; PON1) έναντι του paraoxon παρατηρήθηκε μόνο στην ομάδα RF. Αντίθετα, η ενεργότητα της PON1 έναντι του phenylacetate αυξήθηκε σημαντικά στις ομάδες R και RE. Ο λόγος PON1 (paraoxon)/LDL-C δεν παρουσίασε σημαντική μεταβολή σε καμία από τις 3 ομάδες. Αντίθετα, ο λόγος PON1 (phenylacetate)/LDL-C αυξήθηκε σημαντικά στις ομάδες R και RE. Τα επίπεδα της λεπτίνης μειώθηκαν και στις 3 ομάδες θεραπείας, ενώ δεν παρατηρήθηκε σημαντική μεταβολή στα επίπεδα της ολικής αδιπνεκτίνης σε καμία από τις 3 ομάδες. Ωστόσο, παρατηρήθηκε μια τάση αύξησης της συγκέντρωσης της υψηλού μοριακού βάρους (MB)

αδιπονεκτίνης στις ομάδες R και RF σε σύγκριση με τα αρχικά επίπεδα, καθώς και του λόγου υψηλού MB/ολική αδιπονεκτίνη στην ομάδα RF. Ο λόγος αυτός αυξήθηκε σημαντικά στην ομάδα R, ενώ δεν παρουσίασε σημαντική μεταβολή στην ομάδα RE. Τέλος, τα επίπεδα της βισφατίνης ελαττώθηκαν σημαντικά σε σύγκριση με τα αρχικά επίπεδα στις ομάδες RE και RF και οι μεταβολές αυτές ήταν μεγαλύτερες σε σύγκριση με την ομάδα R ($p<0.05$).

Συμπεράσματα: Η χορήγηση rimonabant τόσο ως μονοθεραπεία όσο και σε συνδυασμό με φαινοφιμπράτη ή εξετιμίμπη βελτίωσε σημαντικά τις ανθρωπομετρικές παραμέτρους και το λιπιδαιμικό προφίλ σε υπέρβαρους και παχύσαρκους ασθενείς με αθηρογόνο δυσλιπιδαιμία. Ο συνδυασμός του rimonabant με φαινοφιμπράτη ή εξετιμίμπη οδήγησε σε περαιτέρω ευνοϊκές μεταβολές στις μεταβολικές παραμέτρους, το φαινότυπο των LDL και HDL σωματιδίων και τις ενεργότητες ενζύμων που σχετίζονται με την αθηροσκλήρωση στους συγκεκριμένους ασθενείς.

SUMMARY

Background: Obesity is a chronic condition, which is frequently associated with disorders of lipid metabolism. Obese patients with dyslipidemia are at increased risk of developing cardiovascular disease.

Objective: The present open-label randomized study evaluated the effects of rimonabant alone and in combination with fenofibrate or ezetimibe on anthropometric variables, lipid profile, carbohydrate metabolism, as well as on LDL and HDL phenotype and activities of atherosclerosis-related enzymes in overweight and obese patients [body mass index (BMI) = 27-40 kg/m²] with atherogenic dyslipidemia [triglycerides (TG) = 150-700 mg/dL and total cholesterol (TC)/high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) ratio >5 in men and >4.5 in women].

Methods: Sixty overweight and obese patients with atherogenic dyslipidemia participated in the study. Patients were prescribed a low-calorie diet and were randomized to receive rimonabant 20 mg/d (R group), rimonabant 20 mg/d plus micronized fenofibrate 160 mg/d (RF group) or rimonabant 20 mg/d plus ezetimibe 10 mg/d (RE group) for 3 months. Anthropometric and metabolic parameters were assessed before treatment initiation and at 3 months.

Results: Four patients dropped out, whereas 56 patients completed the study. Significant reductions in blood pressure, body weight, BMI, waist circumference, TC, non-HDL-C, TG and TC/HDL-C ratio were observed in all treatment groups at 3 months. The reduction in TG and TC/HDL-C ratio was greater in RF group ($p < 0.05$), whereas non-HDL-C reduction was greater in the combination treatment groups compared with rimonabant monotherapy ($p < 0.05$). The levels of low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) and apolipoprotein B (apoB) decreased significantly only in RF and RE groups. The concentration of HDL-C increased in R and RF groups; this increase was greater in RF group ($p < 0.05$). However, apoA1 levels increased only in RF group. Very low-density lipoprotein cholesterol (VLDL-C) and small, dense LDL-C (sdLDL-C) levels were significantly reduced in all treatment groups; both changes were more pronounced in RF group ($p < 0.05$). Furthermore, similar significant reductions in the proportion of sdLDL-C over total LDL-C were observed in all groups. Finally, mean LDL particle diameter increased significantly with R and RF treatment.

Multivariate analysis showed that VLDL-C and sdLDL-C reductions were independently correlated with TG lowering in RF group and with LDL-C decrease in RE group. Large

HDL-C levels were significantly increased in all treatment groups, while this increase was more pronounced in RF group ($p < 0.05$). The concentration of intermediate HDL-C increased significantly only in RF group, whereas small HDL-C levels were significantly reduced with R and RE administration and significantly increased with RF treatment. The elevations in the concentration of all HDL subclasses in RF group were positively correlated with the changes in HDL-C and TG levels during treatment. In contrast, no correlations between the changes in large and small HDL-C levels and lipid or metabolic parameters were observed in the other two treatment groups. Lipoprotein-associated phospholipase A₂ (LpPLA₂) and non-HDL-LpPLA₂ activities were significantly reduced in RE and RF groups. In contrast, HDL-LpPLA₂ activity was significantly increased only with RF therapy. Paraoxonase 1 (PON1) activity against paraoxon was reduced in RF group, whereas PON1 activity against phenylacetate and PON1 (phenylacetate)/LDL-C ratio were significantly increased in R and RE groups. On the other hand, PON1(paraoxon)//LDL-C ratio did not change in any group. Leptin levels decreased significantly, while adiponectin concentration remained unaltered in all treatment groups. However, high molecular weight/total adiponectin ratio was significantly increased in R group. Finally, visfatin concentration was significantly decreased in the two combination treatment groups.

Conclusions: Treatment with rimonabant improved the anthropometric parameters and the lipid profile in overweight and obese patients with atherogenic dyslipidemia. The combination of rimonabant with fenofibrate or ezetimibe was associated with further favorable changes in metabolic parameters, LDL and HDL phenotype and activities of atherosclerosis-related enzymes in these patients.

Βιβλιογραφία

1. Lecerf JM, de Lorgeril M. Dietary cholesterol: from physiology to cardiovascular risk. *Br J Nutr* 2011;106:6-14.
2. Quinn PJ, Chapman D. The dynamics of membrane structure. *CRC Crit Rev Biochem* 1980;8:1-117.
3. Papahadjopoulos D. Cholesterol and cell membrane function: a hypothesis concerning etiology of atherosclerosis. *J Theor Biol* 1974;43:329-37.
4. Edwards PA, Ericsson J. Signaling molecules derived from the cholesterol biosynthetic pathway: mechanisms of action and possible roles in human disease. *Curr Opin Lipidol* 1998;9:433-40.
5. Spector AA, Yorek MA. Membrane lipid composition and cellular function. *J Lipid Res* 1985;26:1015-35.
6. Hanukoglu I. Steroidogenic enzymes: structure, function, and role in regulation of steroid hormone biosynthesis. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1992;43:779-804.
7. Russell DW. Cholesterol biosynthesis and metabolism. *Cardiovasc Drugs Ther* 1992;6:103-10.
8. Mancini M, Postiglione A, di Marino L. Feedback regulation of metabolism by dietary constituents: lipids. *Nutr Metab* 1977;21:13-25.
9. Brown MS, Goldstein JL. Multivalent feedback regulation of HMG CoA reductase, a control mechanism coordinating isoprenoid synthesis and cell growth. *J Lipid Res* 1980;21:505-17.
10. Thurnher M, Nussbaumer O, Gruenbacher G. Novel aspects of mevalonate pathway inhibitors as antitumor agents. *Clin Cancer Res* 2012;18:3524-31.
11. Scanu AM LF. Lipoprotein structure. *Ann N Y Acad Sci* 1980;348:1-436.
12. Gotto AM PH, Havel RJ. Introduction to the plasma lipoproteins. *Methods Enzymol* 1986;128:3-41.
13. Williams KJ, Tabas I. The response-to-retention hypothesis of early atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995;15:551-61.
14. Ελισάφ Μ. Οι διαταραχές του μεταβολισμού των λιπιδίων. Διάγνωση και αντιμετώπιση. 2015.
15. Grundy SM. Cholesterol and Atherosclerosis: Diagnosis and Treatment. 1990.

16. Mikhailidis DP, Elisaf M, Rizzo M, et al. "European panel on low density lipoprotein (LDL) subclasses": a statement on the pathophysiology, atherogenicity and clinical significance of LDL subclasses. *Curr Vasc Pharmacol* 2011;9:533-71.
17. Chapman MJ, Ginsberg HN, Amarenco P, et al. Triglyceride-rich lipoproteins and high-density lipoprotein cholesterol in patients at high risk of cardiovascular disease: evidence and guidance for management. *Eur Heart J* 2011;32:1345-61.
18. Florentin M, Liberopoulos EN, Wierzbicki AS, et al. Multiple actions of high-density lipoprotein. *Curr Opin Cardiol* 2008;23:370-8.
19. Link JJ, Rohatgi A, de Lemos JA. HDL cholesterol: physiology, pathophysiology, and management. *Curr Probl Cardiol* 2007;32:268-314.
20. Rye KA, Bursill CA, Lambert G, et al. The metabolism and anti-atherogenic properties of HDL. *J Lipid Res* 2009;50 Suppl:S195-200.
21. Kontush A, Chapman MJ. Functionally defective high-density lipoprotein: a new therapeutic target at the crossroads of dyslipidemia, inflammation, and atherosclerosis. *Pharmacol Rev* 2006;58:342-74.
22. Mineo C, Deguchi H, Griffin JH, et al. Endothelial and antithrombotic actions of HDL. *Circ Res* 2006;98:1352-64.
23. Tso C, Martinic G, Fan WH, et al. High-density lipoproteins enhance progenitor-mediated endothelium repair in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006;26:1144-9.
24. Murphy AJ, Woollard KJ, Hoang A, et al. High-density lipoprotein reduces the human monocyte inflammatory response. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008;28:2071-7.
25. Calkin AC, Drew BG, Ono A, et al. Reconstituted high-density lipoprotein attenuates platelet function in individuals with type 2 diabetes mellitus by promoting cholesterol efflux. *Circulation* 2009;120:2095-104.
26. Siebel AL, Heywood SE, Kingwell BA. HDL and glucose metabolism: current evidence and therapeutic potential. *Front Pharmacol* 2015;6:258.
27. Kontush A, Chapman MJ. Antiatherogenic small, dense HDL--guardian angel of the arterial wall? *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2006;3:144-53.
28. Kontush A, Chantepie S, Chapman MJ. Small, dense HDL particles exert potent protection of atherogenic LDL against oxidative stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:1881-8.

29. Goldberg R, Temprosa M, Otvos J, et al. Lifestyle and metformin treatment favorably influence lipoprotein subfraction distribution in the Diabetes Prevention Program. *J Clin Endocrinol Metab* 2013; 98:3989-98.
30. Otvos JD, Collins D, Freedman DS, et al. Low-density lipoprotein and high-density lipoprotein particle subclasses predict coronary events and are favorably changed by gemfibrozil therapy in the Veterans Affairs High-Density Lipoprotein Intervention Trial. *Circulation* 2006;113:1556-63.
31. Ruotolo G, Ericsson CG, Tettamanti C, et al. Treatment effects on serum lipoprotein lipids, apolipoproteins and low density lipoprotein particle size and relationships of lipoprotein variables to progression of coronary artery disease in the Bezafibrate Coronary Atherosclerosis Intervention Trial (BECAIT). *J Am Coll Cardiol* 1998;32:1648-56.
32. Mansbach CM, 2nd, Gorelick F. Development and physiological regulation of intestinal lipid absorption. II. Dietary lipid absorption, complex lipid synthesis, and the intracellular packaging and secretion of chylomicrons. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007;293:G645-50.
33. Nordestgaard BG, Stender S, Kjeldsen K. Reduced atherogenesis in cholesterol-fed diabetic rabbits. Giant lipoproteins do not enter the arterial wall. *Arteriosclerosis* 1988;8:421-8.
34. Rapp JH, Lespine A, Hamilton RL, et al. Triglyceride-rich lipoproteins isolated by selected-affinity anti-apolipoprotein B immunosorption from human atherosclerotic plaque. *Arterioscler Thromb* 1994;14:1767-74.
35. Goldstein JL, Ho YK, Brown MS, et al. Cholesteryl ester accumulation in macrophages resulting from receptor-mediated uptake and degradation of hypercholesterolemic canine beta-very low density lipoproteins. *J Biol Chem* 1980;255:1839-48.
36. Pitas RE, Innerarity TL, Mahley RW. Foam cells in explants of atherosclerotic rabbit aortas have receptors for beta-very low density lipoproteins and modified low density lipoproteins. *Arteriosclerosis* 1983;3:2-12.
37. Davies MJ. Stability and instability: two faces of coronary atherosclerosis. The Paul Dudley White Lecture 1995. *Circulation* 1996;94:2013-20.
38. Falk E, Shah PK, Fuster V. Coronary plaque disruption. *Circulation* 1995;92:657-71.

39. Sambola A, Osende J, Hathcock J, et al. Role of risk factors in the modulation of tissue factor activity and blood thrombogenicity. *Circulation* 2003;107:973-7.
40. Moyer MP, Tracy RP, Tracy PB, et al. Plasma lipoproteins support prothrombinase and other procoagulant enzymatic complexes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:458-65.
41. Zheng XY, Liu L. Remnant-like lipoprotein particles impair endothelial function: direct and indirect effects on nitric oxide synthase. *J Lipid Res* 2007;48:1673-80.
42. Giannattasio C, Zoppo A, Gentile G, et al. Acute effect of high-fat meal on endothelial function in moderately dyslipidemic subjects. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:406-10.
43. Alipour A, van Oostrom AJ, Izraeljan A, et al. Leukocyte activation by triglyceride-rich lipoproteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008;28:792-7.
44. Kolovou GD, Mikhailidis DP, Kovar J, et al. Assessment and clinical relevance of non-fasting and postprandial triglycerides: an expert panel statement. *Curr Vasc Pharmacol* 2011;9:258-70.
45. Scanu AM. Lp(a) as a marker for coronary heart disease risk. *Clin Cardiol* 1991;14:135-9.
46. Tziomalos K, Athyros VG, Wierzbicki AS, et al. Lipoprotein a: where are we now? *Curr Opin Cardiol* 2009;24:351-7.
47. Genest J, Jr., Jenner JL, McNamara JR, et al. Prevalence of lipoprotein (a) [Lp(a)] excess in coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1991;67:1039-145.
48. Sniderman AD, Marcovina SM. Apolipoprotein A1 and B. *Clin Lab Med* 2006;26:733-50.
49. Tregouet DA, Ricard S, Nicaud V, et al. In-depth haplotype analysis of ABCA1 gene polymorphisms in relation to plasma ApoA1 levels and myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24:775-81.
50. Ohashi R, Mu H, Wang X, et al. Reverse cholesterol transport and cholesterol efflux in atherosclerosis. *QJM* 2005;98:845-56.
51. Frank PG, Marcel YL. Apolipoprotein A-I: structure-function relationships. *J Lipid Res* 2000;41:853-72.
52. Fielding CJ, Fielding PE. Molecular physiology of reverse cholesterol transport. *J Lipid Res* 1995;36:211-28.

53. Pirich C, Banyai M, Efthimiou Y, et al. Lipoproteins and prostacyclin stability. *Semin Thromb Hemost* 1993;19:138-43.
54. Ashton WD, Nanchahal K, Wood DA. Body mass index and metabolic risk factors for coronary heart disease in women. *Eur Heart J* 2001;22:46-55.
55. Kostapanos MS, Christogiannis LG, Bika E, et al. Apolipoprotein B-to-A1 ratio as a predictor of acute ischemic nonembolic stroke in elderly subjects. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 2010;19:497-502.
56. Durrington P, Sniderman A. *Hyperlipidaemia*. Oxford: Health Press Ltd 2000.
57. Havel RJ, Yamada N, Shames DM. Role of apolipoprotein E in lipoprotein metabolism. *Am Heart J* 1987;113:470-4.
58. Gregg RE, Brewer HB, Jr. The role of apolipoprotein E in modulating the metabolism of apolipoprotein B-48 and apolipoprotein B-100 containing lipoproteins in humans. *Adv Exp Med Biol* 1986;201:289-98.
59. Lenich C, Brecher P, Makrides S, et al. Apolipoprotein gene expression in the rabbit: abundance, size, and distribution of apolipoprotein mRNA species in different tissues. *J Lipid Res* 1988;29:755-64.
60. Wu AL, Windmueller HG. Relative contributions by liver and intestine to individual plasma apolipoproteins in the rat. *J Biol Chem* 1979;254:7316-22.
61. Zannis VI, Cole FS, Jackson CL, et al. Distribution of apolipoprotein A-I, C-II, C-III, and E mRNA in fetal human tissues. Time-dependent induction of apolipoprotein E mRNA by cultures of human monocyte-macrophages. *Biochemistry* 1985;24:4450-5.
62. Jong MC, Havekes LM. Insights into apolipoprotein C metabolism from transgenic and gene-targeted mice. *Int J Tissue React* 2000;22:59-66.
63. Jong MC, Hofker MH, Havekes LM. Role of ApoCs in lipoprotein metabolism: functional differences between ApoC1, ApoC2, and ApoC3. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:472-84.
64. Baggio G, Manzato E, Gabelli C, et al. Apolipoprotein C-II deficiency syndrome. Clinical features, lipoprotein characterization, lipase activity, and correction of hypertriglyceridemia after apolipoprotein C-II administration in two affected patients. *J Clin Invest* 1986;77:520-7.
65. Havel RJ, Fielding CJ, Olivecrona T, et al. Cofactor activity of protein components of human very low density lipoproteins in the hydrolysis of triglycerides by lipoproteins lipase from different sources. *Biochemistry* 1973;12:1828-33.

66. Shachter NS, Hayek T, Leff T, et al. Overexpression of apolipoprotein CII causes hypertriglyceridemia in transgenic mice. *J Clin Invest* 1994;93:1683-90.
67. Tian L, Xu Y, Fu M, et al. Influence of apolipoproteinCII concentrations on HDL subclass distribution. *J Atheroscler Thromb* 2009;16:611-20.
68. Asztalos BF, Cupples LA, Demissie S, et al. High-density lipoprotein subpopulation profile and coronary heart disease prevalence in male participants of the Framingham Offspring Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24:2181-7.
69. Stewart CR, Haw A, 3rd, Lopez R, et al. Serum amyloid P colocalizes with apolipoproteins in human atheroma: functional implications. *J Lipid Res* 2007;48:2162-71.
70. Howlett GJ, Moore KJ. Untangling the role of amyloid in atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 2006;17:541-7.
71. Gerber Y, Goldbourt U, Cohen H, et al. Association between serum apolipoprotein C(II) concentration and coronary heart disease. *Prev Med* 2002;35:42-7.
72. Bruns GA, Karathanasis SK, Breslow JL. Human apolipoprotein A-I--C-III gene complex is located on chromosome 11. *Arteriosclerosis* 1984;4:97-102.
73. Chan DC, Chen MM, Ooi EM, et al. An ABC of apolipoprotein C-III: a clinically useful new cardiovascular risk factor? *Int J Clin Pract* 2008;62:799-809.
74. Jong MC, Rensen PC, Dahlmans VE, et al. Apolipoprotein C-III deficiency accelerates triglyceride hydrolysis by lipoprotein lipase in wild-type and apoE knockout mice. *J Lipid Res* 2001;42:1578-85.
75. Gervaise N, Garrigue MA, Lasfargues G, et al. Triglycerides, apo C3 and Lp B:C3 and cardiovascular risk in type II diabetes. *Diabetologia* 2000;43:703-8.
76. Lee SJ, Campos H, Moye LA, et al. LDL containing apolipoprotein CIII is an independent risk factor for coronary events in diabetic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:853-8.
77. Gerber Y, Goldbourt U, Segev S, et al. Indices related to apo CII and CIII serum concentrations and coronary heart disease: a case-control study. *Prev Med* 2003;37:18-22.
78. Luc G, Fievet C, Arveiler D, et al. Apolipoproteins C-III and E in apoB- and non-apoB-containing lipoproteins in two populations at contrasting risk for myocardial infarction: the ECTIM study. *Etude Cas Temoins sur 'Infarctus du Myocarde*. *J Lipid Res* 1996;37:508-17.

79. Sacks FM, Alaupovic P, Moye LA, et al. VLDL, apolipoproteins B, CIII, and E, and risk of recurrent coronary events in the Cholesterol and Recurrent Events (CARE) trial. *Circulation* 2000;102:1886-92.
80. Hussain MM. A proposed model for the assembly of chylomicrons. *Atherosclerosis* 2000;148:1-15.
81. Beisiegel U. Lipoprotein metabolism. *Eur Heart J* 1998;19 Suppl A:A20-3.
82. Eckel RH. Lipoprotein lipase. A multifunctional enzyme relevant to common metabolic diseases. *N Engl J Med* 1989;320:1060-8.
83. Cooper AD. Hepatic clearance of plasma chylomicron remnants. *Semin Liver Dis* 1992;12:386-96.
84. Davis RA. Cell and molecular biology of the assembly and secretion of apolipoprotein B-containing lipoproteins by the liver. *Biochim Biophys Acta* 1999;1440:1-31.
85. Goldberg IJ. Lipoprotein lipase and lipolysis: central roles in lipoprotein metabolism and atherogenesis. *J Lipid Res* 1996;37:693-707.
86. Connelly PW. The role of hepatic lipase in lipoprotein metabolism. *Clin Chim Acta* 1999;286:243-55.
87. Eisenberg S, Sehayek E. Remnant particles and their metabolism. *Baillieres Clin Endocrinol Metab* 1995;9:739-53.
88. Brown MS, Goldstein JL. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science* 1986;232:34-47.
89. Brown MS, Goldstein JL. Lipoprotein receptors in the liver. Control signals for plasma cholesterol traffic. *J Clin Invest* 1983;72:743-7.
90. Eisenberg S. High density lipoprotein metabolism. *J Lipid Res* 1984;25:1017-58.
91. Tall A. Plasma lipid transfer proteins. *Annu Rev Biochem* 1995;64:235-57.
92. Scanu AM, Edelstein C. HDL: bridging past and present with a look at the future. *FASEB J* 2008;22:4044-54.
93. Castelli WP, Anderson K, Wilson PW, et al. Lipids and risk of coronary heart disease. The Framingham Study. *Ann Epidemiol* 1992;2:23-8.
94. Sharrett AR, Ballantyne CM, Coady SA, et al. Coronary heart disease prediction from lipoprotein cholesterol levels, triglycerides, lipoprotein(a), apolipoproteins A-I and B, and HDL density subfractions: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Circulation* 2001;104:1108-13.

95. Conroy RM, Pyorala K, Fitzgerald AP, et al. Estimation of ten-year risk of fatal cardiovascular disease in Europe: the SCORE project. *Eur Heart J* 2003;24:987-1003.
96. Grundy SM, Cleeman JI, Merz CN, et al. Implications of recent clinical trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III guidelines. *Circulation* 2004;110:227-39.
97. Chapman MJ, Assmann G, Fruchart JC, et al. Raising high-density lipoprotein cholesterol with reduction of cardiovascular risk: the role of nicotinic acid--a position paper developed by the European Consensus Panel on HDL-C. *Curr Med Res Opin* 2004;20:1253-68.
98. Gould AL, Rossouw JE, Santanello NC, et al. Cholesterol reduction yields clinical benefit. A new look at old data. *Circulation* 1995;91:2274-82.
99. Austin MA. Plasma triglyceride and coronary heart disease. *Arterioscler Thromb* 1991;11:2-14.
100. Hokanson JE, Austin MA. Plasma triglyceride level is a risk factor for cardiovascular disease independent of high-density lipoprotein cholesterol level: a meta-analysis of population-based prospective studies. *J Cardiovasc Risk* 1996;3:213-9.
101. Nordestgaard BG, Benn M, Schnohr P, et al. Nonfasting triglycerides and risk of myocardial infarction, ischemic heart disease, and death in men and women. *JAMA* 2007;298:299-308.
102. Freiberg JJ, Tybjaerg-Hansen A, Jensen JS, et al. Nonfasting triglycerides and risk of ischemic stroke in the general population. *JAMA* 2008;300:2142-52.
103. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, et al. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet* 2004;364:937-52.
104. Holme I, Aastveit AH, Hammar N, et al. Relationships between lipoprotein components and risk of ischaemic and haemorrhagic stroke in the Apolipoprotein MOrtality RISK study (AMORIS). *J Intern Med* 2009;265:275-87.
105. Poirier P, Giles TD, Bray GA, et al. Obesity and cardiovascular disease: pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss: an update of the 1997 American Heart Association Scientific Statement on Obesity and Heart Disease from the Obesity Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. *Circulation* 2006;113:898-918.

106. Skinner AC, Skelton JA. Prevalence and trends in obesity and severe obesity among children in the United States, 1999-2012. *JAMA Pediatr* 2014;168:561-6.
107. Skinner AC, Perrin EM, Moss LA, et al. Cardiometabolic Risks and Severity of Obesity in Children and Young Adults. *N Engl J Med* 2015;373:1307-17.
108. Clark GD, Zorumski CF, McNeil RS, et al. Neuronal platelet-activating factor receptor signal transduction involves a pertussis toxin-sensitive G-protein. *Neurochem Res* 2000;25:603-11.
109. Koukoulis GN, Sakka C, Katsaros F, et al. High rates of obesity prevalence in adults living in central Greece: data from the ARGOS study. *Hormones (Athens)* 2010;9:253-62.
110. Wilson PW, D'Agostino RB, Sullivan L, et al. Overweight and obesity as determinants of cardiovascular risk: the Framingham experience. *Arch Intern Med* 2002;162:1867-72.
111. Balkau B, Deanfield JE, Despres JP, et al. International Day for the Evaluation of Abdominal Obesity (IDEA): a study of waist circumference, cardiovascular disease, and diabetes mellitus in 168,000 primary care patients in 63 countries. *Circulation* 2007;116:1942-51.
112. Manson JE, Colditz GA, Stampfer MJ, et al. A prospective study of obesity and risk of coronary heart disease in women. *N Engl J Med* 1990;322:882-9.
113. Le Gales-Camus C, Waxman A. Fighting obesity: clarification from World Health Organization. *BMJ* 2004;329:53-4.
114. Hubert HB, Feinleib M, McNamara PM, et al. Obesity as an independent risk factor for cardiovascular disease: a 26-year follow-up of participants in the Framingham Heart Study. *Circulation* 1983;67:968-77.
115. Lavie CJ, Milani RV, Ventura HO. Obesity and cardiovascular disease: risk factor, paradox, and impact of weight loss. *J Am Coll Cardiol* 2009;53:1925-32.
116. Kumar HK. Cardiometabolic Risks and Obesity in the Young. *N Engl J Med* 2016;374:591-3.
117. Chang Y, Ryu S, Choi Y, et al. Metabolically Healthy Obesity and Development of Chronic Kidney Disease: A Cohort Study. *Ann Intern Med* 2016;64:305-312.
118. Kahn BB, Flier JS. Obesity and insulin resistance. *J Clin Invest* 2000;106:473-81.
119. Despres JP, Moorjani S, Lupien PJ, et al. Regional distribution of body fat, plasma lipoproteins, and cardiovascular disease. *Arteriosclerosis* 1990;10:497-511.

120. Alpert MA. Obesity cardiomyopathy: pathophysiology and evolution of the clinical syndrome. *Am J Med Sci* 2001;321:225-36.
121. Chakko S, Mayor M, Allison MD, et al. Abnormal left ventricular diastolic filling in eccentric left ventricular hypertrophy of obesity. *Am J Cardiol* 1991;68:95-8.
122. Vgontzas AN, Tan TL, Bixler EO, et al. Sleep apnea and sleep disruption in obese patients. *Arch Intern Med* 1994;154:1705-11.
123. Amann K, Benz K. Structural renal changes in obesity and diabetes. *Semin Nephrol* 2013;33:23-33.
124. DeMarco VG, Aroor AR, Sowers JR. The pathophysiology of hypertension in patients with obesity. *Nat Rev Endocrinol* 2014;10:364-76.
125. Thethi T, Kamiyama M, Kobori H. The link between the renin-angiotensin-aldosterone system and renal injury in obesity and the metabolic syndrome. *Curr Hypertens Rep* 2012;14:160-9.
126. Pischon T, Boeing H, Hoffmann K, et al. General and abdominal adiposity and risk of death in Europe. *N Engl J Med* 2008;359:2105-20.
127. Hauner H, Bognar E, Blum A. Body fat distribution and its association with metabolic and hormonal risk factors in women with angiographically assessed coronary artery disease. Evidence for the presence of a metabolic syndrome. *Atherosclerosis* 1994;105:209-16.
128. Reilly MP, Rader DJ. The metabolic syndrome: more than the sum of its parts? *Circulation* 2003;108:1546-51.
129. Cinti S. The adipose organ: morphological perspectives of adipose tissues. *Proc Nutr Soc* 2001;60:319-28.
130. Cinti S. The adipose organ. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2005;73:9-15.
131. Fruhbeck G. Overview of adipose tissue and its role in obesity and metabolic disorders. *Methods Mol Biol* 2008;456:1-22.
132. Fruhbeck G, Gomez-Ambrosi J, Muruzabal FJ, et al. The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001;280:E827-47.
133. Trujillo ME, Scherer PE. Adipose tissue-derived factors: impact on health and disease. *Endocr Rev* 2006;27:762-78.

134. Proenca AR, Sertie RA, Oliveira AC, et al. New concepts in white adipose tissue physiology. *Braz J Med Biol Res* 2014;47:192-205.
135. You T, Yang R, Lyles MF, et al. Abdominal adipose tissue cytokine gene expression: relationship to obesity and metabolic risk factors. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005;288:E741-7.
136. Bergman RN, Van Citters GW, Mittelman SD, et al. Central role of the adipocyte in the metabolic syndrome. *J Investig Med* 2001;49:119-26.
137. Juhan-Vague I, Alessi MC, Mavri A, et al. Plasminogen activator inhibitor-1, inflammation, obesity, insulin resistance and vascular risk. *J Thromb Haemost* 2003;1:1575-9.
138. Ruan H, Lodish HF. Regulation of insulin sensitivity by adipose tissue-derived hormones and inflammatory cytokines. *Curr Opin Lipidol* 2004;15:297-302.
139. Coppack SW. Pro-inflammatory cytokines and adipose tissue. *Proc Nutr Soc* 2001;60:349-56.
140. Gazi I, Liberopoulos EN, Mikhailidis DP, et al. Metabolic syndrome: clinical features leading to therapeutic strategies. *Vasc Dis Prevent* 2004;1:243-53.
141. Ali AT, Hochfeld WE, Myburgh R, et al. Adipocyte and adipogenesis. *Eur J Cell Biol* 2013;92:229-36.
142. Siersbaek R, Nielsen R, Mandrup S. PPAR gamma in adipocyte differentiation and metabolism--novel insights from genome-wide studies. *FEBS Lett* 2010;584:3242-9.
143. Hellerstein MK. De novo lipogenesis in humans: metabolic and regulatory aspects. *Eur J Clin Nutr* 1999;53 Suppl 1:S53-65.
144. Duncan RE, Ahmadian M, Jaworski K, et al. Regulation of lipolysis in adipocytes. *Annu Rev Nutr* 2007;27:79-101.
145. Jaworski K, Sarkadi-Nagy E, Duncan RE, et al. Regulation of triglyceride metabolism. IV. Hormonal regulation of lipolysis in adipose tissue. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007;293:G1-4.
146. Lass A, Zimmermann R, Oberer M, et al. Lipolysis - a highly regulated multi-enzyme complex mediates the catabolism of cellular fat stores. *Prog Lipid Res* 50:14-27.
147. Lau DC, Dhillon B, Yan H, et al. Adipokines: molecular links between obesity and atherosclerosis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005;288:H2031-41.

148. Apostolopoulos V, de Courten MP, Stojanovska L, et al. The complex immunological and inflammatory network of adipose tissue in obesity. *Mol Nutr Food Res* 2016;60:43-57.
149. Wood IS, de Heredia FP, Wang B, et al. Cellular hypoxia and adipose tissue dysfunction in obesity. *Proc Nutr Soc* 2009;68:370-7.
150. McFarlane SI, Banerji M, Sowers JR. Insulin resistance and cardiovascular disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:713-8.
151. Abate N, Chandalia M, Snell PG, et al. Adipose tissue metabolites and insulin resistance in nondiabetic Asian Indian men. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:2750-5.
152. Petersen KF, Shulman GI. Pathogenesis of skeletal muscle insulin resistance in type 2 diabetes mellitus. *Am J Cardiol* 2002;90:11G-8G.
153. Roden M, Price TB, Perseghin G, et al. Mechanism of free fatty acid-induced insulin resistance in humans. *J Clin Invest* 1996;97:2859-65.
154. Abbasi F, Brown BW, Jr., Lamendola C, et al. Relationship between obesity, insulin resistance, and coronary heart disease risk. *J Am Coll Cardiol* 2002;40:937-43.
155. Grundy SM, Brewer HB, Jr., Cleeman JJ, et al. Definition of metabolic syndrome: report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24:e13-8.
156. Garg R, Tripathy D, Dandona P. Insulin resistance as a proinflammatory state: mechanisms, mediators, and therapeutic interventions. *Curr Drug Targets* 2003;4:487-92.
157. Nieto-Vazquez I, Fernandez-Veledo S, Kramer DK, et al. Insulin resistance associated to obesity: the link TNF-alpha. *Arch Physiol Biochem* 2008;114:183-94.
158. Flatt JP. Importance of nutrient balance in body weight regulation. *Diabetes Metab Rev* 1988;4:571-81.
159. Arner P. Control of lipolysis and its relevance to development of obesity in man. *Diabetes Metab Rev* 1988;4:507-15.
160. Burchfiel CM, Abbott RD, Curb JD, et al. Association of insulin levels with lipids and lipoproteins in elderly Japanese-American men. *Ann Epidemiol* 1998;8:92-8.
161. Mitchell BD, Haffner SM, Hazuda HP, et al. The relation between serum insulin levels and 8-year changes in lipid, lipoprotein, and blood pressure levels. *Am J Epidemiol* 1992;136:12-22.

162. Brunzell JD, Hokanson JE. Dyslipidemia of central obesity and insulin resistance. *Diabetes Care* 1999;22 Suppl 3:C10-3.
163. Adiels M, Olofsson SO, Taskinen MR, et al. Overproduction of very low-density lipoproteins is the hallmark of the dyslipidemia in the metabolic syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008;28:1225-36.
164. Ginsberg HN, Huang LS. The insulin resistance syndrome: impact on lipoprotein metabolism and atherothrombosis. *J Cardiovasc Risk* 2000;7:325-31.
165. Jin W, Marchadier D, Rader DJ. Lipases and HDL metabolism. *Trends Endocrinol Metab* 2002;13:174-8.
166. Ayyobi AF, Brunzell JD. Lipoprotein distribution in the metabolic syndrome, type 2 diabetes mellitus, and familial combined hyperlipidemia. *Am J Cardiol* 2003;92:27J-33J.
167. Miller WM, Nori-Janosz KE, Lillystone M, et al. Obesity and lipids. *Curr Cardiol Rep* 2005;7:465-70.
168. Kang HS, Gutin B, Barbeau P, et al. Low-density lipoprotein particle size, central obesity, cardiovascular fitness, and insulin resistance syndrome markers in obese youths. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2002;26:1030-5.
169. Festa A, D'Agostino R, Jr., Mykkanen L, et al. LDL particle size in relation to insulin, proinsulin, and insulin sensitivity. The Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Diabetes Care* 1999;22:1688-93.
170. Goff DC, D'Agostino RB, Haffner SM, et al. Insulin resistance and adiposity influence lipoprotein size and subclass concentrations. Results from the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Metabolism* 2005;54:264-70.
171. Festa A, Williams K, Hanley AJ, et al. Nuclear magnetic resonance lipoprotein abnormalities in prediabetic subjects in the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Circulation* 2005;111:3465-72.
172. Garvey WT, Kwon SW, Zheng D, et al. Effects of insulin resistance and type 2 diabetes on lipoprotein subclass particle size and concentration determined by nuclear magnetic resonance. *Diabetes* 2003;52:453-62.
173. Carr MC, Hokanson JE, Zambon A, et al. The contribution of intraabdominal fat to gender differences in hepatic lipase activity and low/high lipoprotein heterogeneity. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:2831-7.
174. Hulthe J, Hulten LM, Fagerberg B. Low adipocyte-derived plasma protein adiponectin concentrations are associated with the metabolic syndrome and small dense

low-density lipoprotein particles: atherosclerosis and insulin resistance study. *Metabolism* 2003;52:1612-4.

175. Clinical Guidelines on the Identification, Evaluation, and Treatment of Overweight and Obesity in Adults--The Evidence Report. National Institutes of Health. *Obes Res* 1998;6 Suppl 2:51S-209S.

176. Kopp HP, Kopp CW, Festa A, et al. Impact of weight loss on inflammatory proteins and their association with the insulin resistance syndrome in morbidly obese patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:1042-7.

177. Kiortsis DN, Filippatos TD, Elisaf MS. The effects of orlistat on metabolic parameters and other cardiovascular risk factors. *Diabetes Metab* 2005;31:15-22.

178. Neff LM, Aronne LJ. Pharmacotherapy for obesity. *Curr Atheroscler Rep* 2007;9:454-62.

179. James WP, Caterson ID, Coutinho W, et al. Effect of sibutramine on cardiovascular outcomes in overweight and obese subjects. *N Engl J Med* 2010;363:905-17.

180. Apovian CM, Aronne LJ, Bessesen DH, et al. Pharmacological management of obesity: an endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2015;100:342-62.

181. Howlett AC, Barth F, Bonner TI, et al. International Union of Pharmacology. XXVII. Classification of cannabinoid receptors. *Pharmacol Rev* 2002;54:161-202.

182. Matsuda LA, Lolait SJ, Brownstein MJ, et al. Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature* 1990;346:561-4.

183. Munro S, Thomas KL, Abu-Shaar M. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature* 1993;365:61-5.

184. Devane WA, Hanus L, Breuer A, et al. Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science* 1992;258:1946-9.

185. Hanus L, Abu-Lafi S, Fride E, et al. 2-arachidonyl glyceryl ether, an endogenous agonist of the cannabinoid CB1 receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98:3662-5.

186. Cota D MG, Lutz B et al. Endogenous cannabinoid system as a modulator of food intake. *Intern J Obes* 2003;27:289-301.

187. Di Marzo V, Bifulco M, De Petrocellis L. The endocannabinoid system and its therapeutic exploitation. *Nat Rev Drug Discov* 2004;3:771-84.

188. Porter AC, Felder CC. The endocannabinoid nervous system: unique opportunities for therapeutic intervention. *Pharmacol Ther* 2001;90:45-60.

189. Di Marzo V, Goparaju SK, Wang L, et al. Leptin-regulated endocannabinoids are involved in maintaining food intake. *Nature* 2001;410:822-5.
190. Kirkham TC, Williams CM, Fezza F, et al. Endocannabinoid levels in rat limbic forebrain and hypothalamus in relation to fasting, feeding and satiation: stimulation of eating by 2-arachidonoyl glycerol. *Br J Pharmacol* 2002;136:550-7.
191. Wilson RI, Nicoll RA. Endocannabinoid signaling in the brain. *Science* 2002;296:678-82.
192. Pagotto U, Vicennati V, Pasquali R. The endocannabinoid system and the treatment of obesity. *Ann Med* 2005;37:270-5.
193. Ravinet Trillou C, Arnone M, Delgorge C, et al. Anti-obesity effect of SR141716, a CB1 receptor antagonist, in diet-induced obese mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2003;284:R345-53.
194. Pagotto U, Marsicano G, Cota D, et al. The emerging role of the endocannabinoid system in endocrine regulation and energy balance. *Endocr Rev* 2006;27:73-100.
195. Pagotto U, Pasquali R. Fighting obesity and associated risk factors by antagonising cannabinoid type 1 receptors. *Lancet* 2005;365:1363-4.
196. Cota D, Marsicano G, Tschop M, et al. The endogenous cannabinoid system affects energy balance via central orexigenic drive and peripheral lipogenesis. *J Clin Invest* 2003;112:423-31.
197. Matsuzawa Y, Funahashi T, Kihara S, et al. Adiponectin and metabolic syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24:29-33.
198. Bluher M, Engeli S, Kloting N, et al. Dysregulation of the peripheral and adipose tissue endocannabinoid system in human abdominal obesity. *Diabetes* 2006;55:3053-60.
199. Matias I, Gonthier MP, Orlando P, et al. Regulation, function, and dysregulation of endocannabinoids in models of adipose and beta-pancreatic cells and in obesity and hyperglycemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:3171-80.
200. Thornton-Jones ZD, Kennett GA, Benwell KR, et al. The cannabinoid CB1 receptor inverse agonist, rimonabant, modifies body weight and adiponectin function in diet-induced obese rats as a consequence of reduced food intake. *Pharmacol Biochem Behav* 2006;84:353-9.
201. Colombo G, Agabio R, Diaz G, et al. Appetite suppression and weight loss after the cannabinoid antagonist SR 141716. *Life Sci* 1998;63:PL113-7.

202. Jbilo O, Ravinet-Trillou C, Arnone M, et al. The CB1 receptor antagonist rimonabant reverses the diet-induced obesity phenotype through the regulation of lipolysis and energy balance. *Faseb J* 2005;19:1567-9.
203. Carai A.M, Mauro CG, Gessa Gian Luigi. Rimonabant: The first therapeutically relevant cannabinoid antagonist. *Life Sci* 2005;77:2339-50.
204. Verty AN, McGregor IS, Mallet PE. Consumption of high carbohydrate, high fat, and normal chow is equally suppressed by a cannabinoid receptor antagonist in non-deprived rats. *Neurosci Lett* 2004;354:217-20.
205. Liu YL, Connoley IP, Wilson CA, et al. Effects of the cannabinoid CB1 receptor antagonist SR141716 on oxygen consumption and soleus muscle glucose uptake in Lep(ob)/Lep(ob) mice. *Int J Obes* 2005;29:183-7.
206. Bensaid M, Gary-Bobo M, Esclangon A, et al. The cannabinoid CB1 receptor antagonist SR141716 increases Acp30 mRNA expression in adipose tissue of obese fa/fa rats and in cultured adipocyte cells. *Mol Pharmacol* 2003;63:908-14.
207. Poirier B, Bidouard JP, Cadrouvele C, et al. The anti-obesity effect of rimonabant is associated with an improved serum lipid profile. *Diabetes Obes Metab* 2005;7:65-72.
208. Ozaki N, Sengupta JN, Gebhart GF. Mechanosensitive properties of gastric vagal afferent fibers in the rat. *J Neurophysiol* 1999;82:2210-20.
209. Bergstrom MA, Isin EM, Castagnoli N, Jr., et al. Bioactivation pathways of the cannabinoid receptor 1 antagonist rimonabant. *Drug Metab Dispos* 2011;39:1823-32.
210. Van Gaal LF, Rissanen AM, Scheen AJ, et al. Effects of the cannabinoid-1 receptor blocker rimonabant on weight reduction and cardiovascular risk factors in overweight patients: 1-year experience from the RIO-Europe study. *Lancet* 2005;365:1389-97.
211. Despres JP, Golay A, Sjostrom L. Effects of rimonabant on metabolic risk factors in overweight patients with dyslipidemia. *N Engl J Med* 2005;353:2121-34.
212. Pi-Sunyer FX, Aronne LJ, Heshmati HM, et al. Effect of rimonabant, a cannabinoid-1 receptor blocker, on weight and cardiometabolic risk factors in overweight or obese patients: RIO-North America: a randomized controlled trial. *JAMA* 2006;295:761-75.
213. Scheen AJ, Finer N, Hollander P, et al. Efficacy and tolerability of rimonabant in overweight or obese patients with type 2 diabetes: a randomised controlled study. *Lancet* 2006;368:1660-72.

214. Rosenstock J, Hollander P, Chevalier S, et al. SERENADE: the Study Evaluating Rimonabant Efficacy in Drug-naive Diabetic Patients: effects of monotherapy with rimonabant, the first selective CB1 receptor antagonist, on glycemic control, body weight, and lipid profile in drug-naive type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2008;31:2169-76.
215. Hollander PA, Amod A, Litwak LE, et al. Effect of Rimonabant on Glycemic Control in Insulin-Treated Type 2 Diabetes: The ARPEGGIO Trial. *Diabetes Care* 2010;33:605-7.
216. Despres JP, Ross R, Boka G, et al. Effect of rimonabant on the high-triglyceride/low-HDL-cholesterol dyslipidemia, intraabdominal adiposity, and liver fat: the ADAGIO-Lipids trial. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009;29:416-23.
217. Nissen SE, Nicholls SJ, Wolski K, et al. Effect of rimonabant on progression of atherosclerosis in patients with abdominal obesity and coronary artery disease: the STRADIVARIUS randomized controlled trial. *JAMA* 2008;299:1547-60.
218. O'Leary DH, Reuwer AQ, Nissen SE, et al. Effect of rimonabant on carotid intima-media thickness (CIMT) progression in patients with abdominal obesity and metabolic syndrome: the AUDITOR Trial. *Heart* 2011;97:1143-50.
219. Topol EJ, Bousser MG, Fox KA, et al. Rimonabant for prevention of cardiovascular events (CRESCENDO): a randomised, multicentre, placebo-controlled trial. *Lancet* 2010;376:517-23.
220. Boesten JE, Kaper J, Stoffers HE, et al. Rimonabant improves obesity but not the overall cardiovascular risk and quality of life; results from CARDIO-REDUCE (CARDIometabolic Risk reDUCTION by Rimonabant: the Effectiveness in Daily practice and its USE). *Fam Pract* 2012;29:521-7.
221. Keating GM, Ormrod D. Micronised fenofibrate: an updated review of its clinical efficacy in the management of dyslipidaemia. *Drugs* 2002;62:1909-44.
222. Adkins JC, Faulds D. Micronised fenofibrate: a review of its pharmacodynamic properties and clinical efficacy in the management of dyslipidaemia. *Drugs* 1997;54:615-33.
223. Miller DB, Spence JD. Clinical pharmacokinetics of fibric acid derivatives (fibrates). *Clin Pharmacokinet* 1998;34:155-62.
224. Godfrey AR, Digiacinto J, Davis MW. Single-dose bioequivalence of 105-mg fenofibric acid tablets versus 145-mg fenofibrate tablets under fasting and fed conditions: a

report of two phase I, open-label, single-dose, randomized, crossover clinical trials. *Clin Ther* 2011;33:766-75.

225. Gonzalez FJ, Peters JM, Cattley RC. Mechanism of action of the nongenotoxic peroxisome proliferators: role of the peroxisome proliferator-activator receptor alpha. *J Natl Cancer Inst* 1998;90:1702-9.

226. Kersten S, Desvergne B, Wahli W. Roles of PPARs in health and disease. *Nature* 2000;405:421-4.

227. Schoonjans K, Staels B, Auwerx J. Role of the peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) in mediating the effects of fibrates and fatty acids on gene expression. *J Lipid Res* 1996;37:907-25.

228. Watts GF, Dimmitt SB. Fibrates, dyslipoproteinaemia and cardiovascular disease. *Curr Opin Lipidol* 1999;10:561-74.

229. Vu-Dac N, Gervois P, Jakel H, et al. Apolipoprotein A5, a crucial determinant of plasma triglyceride levels, is highly responsive to peroxisome proliferator-activated receptor alpha activators. *J Biol Chem* 2003;278:17982-5.

230. Filippatos T, Milionis HJ. Treatment of hyperlipidaemia with fenofibrate and related fibrates. *Expert Opin Investig Drugs* 2008;17:1599-614.

231. Elisaf M. Effects of fibrates on serum metabolic parameters. *Curr Med Res Opin* 2002;18:269-76.

232. Guerin M, Bruckert E, Dolphin PJ, et al. Fenofibrate reduces plasma cholesteryl ester transfer from HDL to VLDL and normalizes the atherogenic, dense LDL profile in combined hyperlipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996;16:763-72.

233. Grundy SM, Vega GL. Fibric acids: effects on lipids and lipoprotein metabolism. *Am J Med* 1987;83:9-20.

234. Ikewaki K, Tohyama J, Nakata Y, et al. Fenofibrate effectively reduces remnants, and small dense LDL, and increases HDL particle number in hypertriglyceridemic men - a nuclear magnetic resonance study. *J Atheroscler Thromb* 2004;11:278-85.

235. Fruchart JC, Duriez P. Mode of action of fibrates in the regulation of triglyceride and HDL-cholesterol metabolism. *Drugs Today (Barc)* 2006;42:39-64.

236. Farnier M, Bonnefous F, Debbas N, et al. Comparative efficacy and safety of micronized fenofibrate and simvastatin in patients with primary type IIa or IIb hyperlipidemia. *Arch Intern Med* 1994;154:441-9.

237. Feher MD, Caslake M, Foxton J, et al. Atherogenic lipoprotein phenotype in type 2 diabetes: reversal with micronised fenofibrate. *Diabetes Metab Res Rev* 1999;15:395-9.
238. Vakkilainen J, Steiner G, Ansquer JC, et al. Relationships between low-density lipoprotein particle size, plasma lipoproteins, and progression of coronary artery disease: the Diabetes Atherosclerosis Intervention Study (DAIS). *Circulation* 2003;107:1733-7.
239. Tsimihodimos V, Liberopoulos E, Elisaf M. Pleiotropic effects of fenofibrate. *Curr Pharm Des* 2009;15:517-28.
240. Simo IE, Yakichuk JA, Ooi TC. Effect of gemfibrozil and lovastatin on postprandial lipoprotein clearance in the hypoalphalipoproteinemia and hypertriglyceridemia syndrome. *Atherosclerosis* 1993;100:55-64.
241. Ditschuneit HH, Flechtner-Mors M, Hagel E, et al. Postprandial lipoprotein metabolism in obese patients with moderate hypertriglyceridaemia: effects of gemfibrozil. *J Int Med Res* 1992;20:197-210.
242. Tsunoda F, Asztalos IB, Horvath KV, et al. Fenofibrate, HDL, and cardiovascular disease in Type-2 diabetes: The DAIS trial. *Atherosclerosis* 2016;247:35-9.
243. Athyros VG, Papageorgiou AA, Athyrou VV, et al. Atorvastatin and micronized fenofibrate alone and in combination in type 2 diabetes with combined hyperlipidemia. *Diabetes Care* 2002;25:1198-202.
244. Tribble DL, Farnier M, Macdonell G, et al. Effects of fenofibrate and ezetimibe, both as monotherapy and in coadministration, on cholesterol mass within lipoprotein subfractions and low-density lipoprotein peak particle size in patients with mixed hyperlipidemia. *Metabolism* 2008;57:796-801.
245. Bairaktari ET, Tzallas CS, Tsimihodimos VK, et al. Comparison of the efficacy of atorvastatin and micronized fenofibrate in the treatment of mixed hyperlipidemia. *J Cardiovasc Risk* 1999;6:113-6.
246. Athyros VG, Mikhailidis DP, Papageorgiou AA, et al. Targeting vascular risk in patients with metabolic syndrome but without diabetes. *Metabolism* 2005;54:1065-74.
247. Tsimihodimos V, Kakafika A, Tambaki AP, et al. Fenofibrate induces HDL-associated PAF-AH but attenuates enzyme activity associated with apoB-containing lipoproteins. *J Lipid Res* 2003;44:927-34.
248. Insua A, Massari F, Rodriguez Moncalvo JJ, et al. Fenofibrate or gemfibrozil for treatment of types IIa and IIb primary hyperlipoproteinemia: a randomized, double-blind, crossover study. *Endocr Pract* 2002;8:96-101.

249. Tsimihodimos V, Kostoula A, Kakafika A, et al. Effect of fenofibrate on serum inflammatory markers in patients with high triglyceride values. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 2004;9:27-33.
250. Idzior-Walus B, Sieradzki J, Rostworowski W, et al. Effects of comiconised fenofibrate on lipid and insulin sensitivity in patients with polymetabolic syndrome X. *Eur J Clin Invest* 2000;30:871-8.
251. Guerre-Millo M, Gervois P, Raspe E, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha activators improve insulin sensitivity and reduce adiposity. *J Biol Chem* 2000;275:16638-42.
252. Feher MD, Hepburn AL, Hogarth MB, et al. Fenofibrate enhances urate reduction in men treated with allopurinol for hyperuricaemia and gout. *Rheumatology (Oxford)* 2003;42:321-5.
253. Achimastos A, Liberopoulos E, Nikas S, et al. The effects of the addition of micronised fenofibrate on uric acid metabolism in patients receiving indapamide. *Curr Med Res Opin* 2002;18:59-63.
254. Liamis G, Bairaktari ET, Elisaf MS. Effect of fenofibrate on serum uric acid levels. *Am J Kidney Dis* 1999;34:594.
255. Kiortsis DN, Elisaf MS. Serum uric acid levels: a useful but not absolute marker of compliance with fenofibrate treatment. *Fundam Clin Pharmacol* 2001;15:401-3.
256. Daskalopoulou SS, Tzovaras V, Mikhailidis DP, et al. Effect on serum uric acid levels of drugs prescribed for indications other than treating hyperuricaemia. *Curr Pharm Des* 2005;11:4161-75.
257. Elisaf M, Tsimichodimos V, Bairaktari E, et al. Effect of micronized fenofibrate and losartan combination on uric acid metabolism in hypertensive patients with hyperuricemia. *J Cardiovasc Pharmacol* 1999;34:60-3.
258. Gilbert K, Nian H, Yu C, et al. Fenofibrate lowers blood pressure in salt-sensitive but not salt-resistant hypertension. *J Hypertens* 2013;31:820-9.
259. Kon Koh K, Yeal Ahn J, Hwan Han S, et al. Effects of fenofibrate on lipoproteins, vasomotor function, and serological markers of inflammation, plaque stabilization, and hemostasis. *Atherosclerosis* 2004;174:379-83.
260. Dong C, Hu Y, Wang H, et al. Inhibitory effects of fenofibrate on plasminogen activator inhibitor-1 expression in human endothelial cells. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2006;26:192-3, 8.

261. Wang TD, Chen WJ, Lin JW, et al. Efficacy of fenofibrate and simvastatin on endothelial function and inflammatory markers in patients with combined hyperlipidemia: relations with baseline lipid profiles. *Atherosclerosis* 2003;170:315-23.
262. Kleemann R, Gervois PP, Verschuren L, et al. Fibrates down-regulate IL-1-stimulated C-reactive protein gene expression in hepatocytes by reducing nuclear p50-NFkappa B-C/EBP-beta complex formation. *Blood* 2003;101:545-51.
263. Yesilbursa D, Serdar A, Saltan Y, et al. The effect of fenofibrate on serum paraoxonase activity and inflammatory markers in patients with combined hyperlipidemia. *Kardiol Pol* 2005;62:526-30.
264. Phuntuwate W, Suthisisang C, Koanantakul B, et al. Effect of fenofibrate therapy on paraoxonase I status in patients with low HDL-C levels. *Atherosclerosis* 2008;196:122-8.
265. Paragh G, Seres I, Harangi M, et al. The effect of micronised fenofibrate on paraoxonase activity in patients with coronary heart disease. *Diabetes Metab* 2003;29:613-8.
266. Saougos VG, Tambaki AP, Kalogirou M, et al. Differential effect of hypolipidemic drugs on lipoprotein-associated phospholipase A2. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007;27:2236-43.
267. Rosenson RS. Fenofibrate reduces lipoprotein associated phospholipase A2 mass and oxidative lipids in hypertriglyceridemic subjects with the metabolic syndrome. *Am Heart J* 2008;155:499 e9-16.
268. Beltowski J, Wojcicka G, Mydlarczyk M, et al. The effect of peroxisome proliferator-activated receptors alpha (PPARalpha) agonist, fenofibrate, on lipid peroxidation, total antioxidant capacity, and plasma paraoxonase 1 (PON 1) activity. *J Physiol Pharmacol* 2002;53:463-75.
269. Kostapanos MS, Kei A, Elisaf MS. Current role of fenofibrate in the prevention and management of non-alcoholic fatty liver disease. *World J Hepatol* 2013;5:470-8.
270. Tsimihodimos V, Kakafika A, Elisaf M. Fibrate treatment can increase serum creatinine levels. *Nephrol Dial Transplant* 2001;16:1301.
271. Tsimihodimos V, Bairaktari E, Elisaf M. Fibrate-induced increase in serum urea and creatinine levels. *Nephrol Dial Transplant* 2002;17:682.
272. Tsimihodimos V, Miltiadows G, Bairaktari E, et al. Possible mechanisms of the fibrate-induced increase in serum creatinine. *Clin Nephrol* 2002;57:407-8.

273. Ginsberg HN, Elam MB, Lovato LC, et al. Effects of combination lipid therapy in type 2 diabetes mellitus. *N Engl J Med* 2010;362:1563-74.
274. Keech A, Simes RJ, Barter P, et al. Effects of long-term fenofibrate therapy on cardiovascular events in 9795 people with type 2 diabetes mellitus (the FIELD study): randomised controlled trial. *Lancet* 2005;366:1849-61.
275. Davis TM, Ting R, Best JD, et al. Effects of fenofibrate on renal function in patients with type 2 diabetes mellitus: the Fenofibrate Intervention and Event Lowering in Diabetes (FIELD) Study. *Diabetologia* 2011; 54:280-290.
276. Bissonnette R, Treacy E, Rozen R, et al. Fenofibrate raises plasma homocysteine levels in the fasted and fed states. *Atherosclerosis* 2001;155:455-62.
277. Milionis HJ, Papakostas J, Kakafika A, et al. Comparative effects of atorvastatin, simvastatin, and fenofibrate on serum homocysteine levels in patients with primary hyperlipidemia. *J Clin Pharmacol* 2003;43:825-30.
278. Dierkes J, Westphal S, Kunstmann S, et al. Vitamin supplementation can markedly reduce the homocysteine elevation induced by fenofibrate. *Atherosclerosis* 2001;158:161-4.
279. Collaboration HS. Homocysteine and risk of ischemic heart disease and stroke: a meta-analysis. *JAMA* 2002;288:2015-22.
280. Bona KH, Njolstad I, Ueland PM, et al. Homocysteine lowering and cardiovascular events after acute myocardial infarction. *New Engl J Med* 2006;354:1578-88.
281. Lonn E, Yusuf S, Arnold MJ, et al. Homocysteine lowering with folic acid and B vitamins in vascular disease. *New Engl J Med* 2006;354:1567-77.
282. Lippi G, Plebani M. Hyperhomocysteinemia in health and disease: where we are now, and where do we go from here ? *Clin Chem Lab Med* 2012;50:2075-80.
283. Herrmann M, Whiting MJ, Veillard AS, et al. Plasma homocysteine and the risk of venous thromboembolism: insights from the FIELD study. *Clin Chem Lab Med* 2012;50:2213-9.
284. Scott R, O'Brien R, Fulcher G, et al. Effects of fenofibrate treatment on cardiovascular disease risk in 9,795 individuals with type 2 diabetes and various components of the metabolic syndrome: the Fenofibrate Intervention and Event Lowering in Diabetes (FIELD) study. *Diabetes Care* 2009;32:493-8.

285. Davis TM, Ting R, Best JD, et al. Effects of fenofibrate on renal function in patients with type 2 diabetes mellitus: the Fenofibrate Intervention and Event Lowering in Diabetes (FIELD) Study. *Diabetologia* 2011;54:280-90.
286. Keech AC, Mitchell P, Summanen PA, et al. Effect of fenofibrate on the need for laser treatment for diabetic retinopathy (FIELD study): a randomised controlled trial. *Lancet* 2007;370:1687-97.
287. Rajamani K, Colman PG, Li LP, et al. Effect of fenofibrate on amputation events in people with type 2 diabetes mellitus (FIELD study): a prespecified analysis of a randomised controlled trial. *Lancet* 2009;373:1780-8.
288. Jun M, Foote C, Lv J, et al. Effects of fibrates on cardiovascular outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Lancet* 2010;375:1875-84.
289. Muhlestein JB, May HT, Jensen JR, et al. The reduction of inflammatory biomarkers by statin, fibrate, and combination therapy among diabetic patients with mixed dyslipidemia: the DIACOR (Diabetes and Combined Lipid Therapy Regimen) study. *J Am Coll Cardiol* 2006;48:396-401.
290. Krysiak R, Gdula-Dymek A, Okopien B. Effect of simvastatin and fenofibrate on cytokine release and systemic inflammation in type 2 diabetes mellitus with mixed dyslipidemia. *Am J Cardiol* 2011;107:1010-8 e1.
291. Jones PH, Cusi K, Davidson MH, et al. Efficacy and safety of fenofibric acid co-administered with low- or moderate-dose statin in patients with mixed dyslipidemia and type 2 diabetes mellitus: results of a pooled subgroup analysis from three randomized, controlled, double-blind trials. *Am J Cardiovasc Drugs* 2010;10:73-84.
292. Filippatos TD, Elisaf MS. Fenofibrate plus simvastatin (fixed-dose combination) for the treatment of dyslipidaemia. *Expert Opin Pharmacother* 2011;12:1945-58.
293. Roth EM, Rosenson RS, Jones PH, et al. Attainment of goal/desirable lipid levels in patients with mixed dyslipidemia after 12 weeks of treatment with fenofibric acid and rosuvastatin combination therapy: a pooled analysis of controlled studies. *J Clin Lipidol* 2012;6:534-44.
294. Farnier M. Ezetimibe plus fenofibrate: a new combination therapy for the management of mixed hyperlipidaemia? *Expert Opin Pharmacother* 2007;8:1345-52.
295. Moon YS, Chun P, Chung S. Ezetimibe and fenofibrate combination therapy for mixed hyperlipidemia. *Drugs Today (Barc)* 2007;43:35-45.

296. Farnier M, Freeman MW, Macdonell G, et al. Efficacy and safety of the coadministration of ezetimibe with fenofibrate in patients with mixed hyperlipidaemia. *Eur Heart J* 2005;26:897-905.
297. McKenney JM, Farnier M, Lo KW, et al. Safety and efficacy of long-term coadministration of fenofibrate and ezetimibe in patients with mixed hyperlipidemia. *J Am Coll Cardiol* 2006;47:1584-7.
298. Kumar SS, Lahey KA, Day A, et al. Comparison of the efficacy of administering a combination of ezetimibe plus fenofibrate versus atorvastatin monotherapy in the treatment of dyslipidemia. *Lipids Health Dis* 2009;8:56.
299. Ansquer JC, Bekaert I, Guy M, et al. Efficacy and safety of coadministration of fenofibrate and ezetimibe compared with each as monotherapy in patients with type IIb dyslipidemia and features of the metabolic syndrome: a prospective, randomized, double-blind, three-parallel arm, multicenter, comparative study. *Am J Cardiovasc Drugs* 2009;9:91-101.
300. McKenney J, Jones M, Abby S. Safety and efficacy of colessevelam hydrochloride in combination with fenofibrate for the treatment of mixed hyperlipidemia. *Curr Med Res Opin* 2005;21:1403-12.
301. Roth EM, Bays HE, Forker AD, et al. Prescription omega-3 fatty acid as an adjunct to fenofibrate therapy in hypertriglyceridemic subjects. *J Cardiovasc Pharmacol* 2009;54:196-203.
302. Filippatos TD, Kiortsis DN, Liberopoulos EN, et al. Effect of orlistat, micronised fenofibrate and their combination on metabolic parameters in overweight and obese patients with the metabolic syndrome: the FenOrli study. *Curr Med Res Opin* 2005;21:1997-2006.
303. Filippatos TD, Gazi IF, Liberopoulos EN, et al. The effect of orlistat and fenofibrate, alone or in combination, on small dense LDL and lipoprotein-associated phospholipase A2 in obese patients with metabolic syndrome. *Atherosclerosis* 2007;193:428-37.
304. Magai RM, Shukla SD. Metabolic fate of [14C]-ethanol into endothelial cell phospholipids including platelet-activating factor, sphingomyelin and phosphatidylethanol. *J Biomed Sci* 2001;8:143-50.
305. Jun M, Zhu B, Tonelli M, et al. Effects of fibrates in kidney disease: a systematic review and meta-analysis. *J Am Coll Cardiol* 2012;60:2061-71.

306. Florentin M, Liberopoulos EN, Mikhailidis DP, et al. Fibrate-associated adverse effects beyond muscle and liver toxicity. *Curr Pharm Des* 2008;14:574-87.
307. Mikhailidis DP, Wierzbicki AS, Daskalopoulou SS, et al. The use of ezetimibe in achieving low density lipoprotein lowering goals in clinical practice: position statement of a United Kingdom consensus panel. *Curr Med Res Opin* 2005;21:959-69.
308. Bays H. Ezetimibe. *Expert Opin Investig Drugs* 2002;11:1587-604.
309. Toth PP, Davidson MH. Cholesterol absorption blockade with ezetimibe. *Curr Drug Targets Cardiovasc Haematol Disord* 2005;5:455-62.
310. Altmann SW, Davis HR, Jr., Zhu LJ, et al. Niemann-Pick C1 Like 1 protein is critical for intestinal cholesterol absorption. *Science* 2004;303:1201-4.
311. Davis HR, Jr., Zhu LJ, Hoos LM, et al. Niemann-Pick C1 Like 1 (NPC1L1) is the intestinal phytosterol and cholesterol transporter and a key modulator of whole-body cholesterol homeostasis. *J Biol Chem* 2004;279:33586-92.
312. Garcia-Calvo M, Lisnock J, Bull HG, et al. The target of ezetimibe is Niemann-Pick C1-Like 1 (NPC1L1). *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:8132-7.
313. Smart EJ, De Rose RA, Farber SA. Annexin 2-caveolin 1 complex is a target of ezetimibe and regulates intestinal cholesterol transport. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101:3450-5.
314. Kramer W, Girbig F, Corsiero D, et al. Aminopeptidase N (CD13) is a molecular target of the cholesterol absorption inhibitor ezetimibe in the enterocyte brush border membrane. *J Biol Chem* 2005;280:1306-20.
315. Ghosal A, Hapangama N, Yuan Y, et al. Identification of human UDP-glucuronosyltransferase enzyme(s) responsible for the glucuronidation of ezetimibe (Zetia). *Drug Metab Dispos* 2004;32:314-20.
316. Sudhop T, Lutjohann D, Kodal A, et al. Inhibition of intestinal cholesterol absorption by ezetimibe in humans. *Circulation* 2002;106:1943-8.
317. Hildemann SK, Barho C, Karmann B, et al. Dual cholesterol inhibition with ezetimibe/simvastatin in pre-treated hypercholesterolaemic patients with coronary heart disease or diabetes mellitus: prospective observational cohort studies in clinical practice. *Curr Med Res Opin* 2007;23:713-9.
318. Blagden MD, Chipperfield R. Efficacy and safety of ezetimibe co-administered with atorvastatin in untreated patients with primary hypercholesterolaemia and coronary heart disease. *Curr Med Res Opin* 2007;23:767-75.

319. Kosoglou T, Meyer I, Veltri EP, et al. Pharmacodynamic interaction between the new selective cholesterol absorption inhibitor ezetimibe and simvastatin. *Br J Clin Pharmacol* 2002;54:309-19.
320. Kosoglou T, Statkevich P, Yang B, et al. Pharmacodynamic interaction between ezetimibe and rosuvastatin. *Curr Med Res Opin* 2004;20:1185-95.
321. Farnier M, Roth E, Gil-Extremera B, et al. Efficacy and safety of the coadministration of ezetimibe/simvastatin with fenofibrate in patients with mixed hyperlipidemia. *Am Heart J* 2007;153:335 e1-8.
322. Daskalopoulou SS, Mikhailidis DP. Reaching goal in hypercholesterolaemia: dual inhibition of cholesterol synthesis and absorption with simvastatin plus ezetimibe. *Curr Med Res Opin* 2006;22:511-28.
323. Knopp RH, Gitter H, Truitt T, et al. Effects of ezetimibe, a new cholesterol absorption inhibitor, on plasma lipids in patients with primary hypercholesterolemia. *Eur Heart J* 2003;24:729-41.
324. Gazi IF, Mikhailidis DP. Non-low-density lipoprotein cholesterol-associated actions of ezetimibe: an overview. *Expert Opin Ther Targets* 2006;10:851-66.
325. Kalogirou M, Tsimihodimos V, Gazi I, et al. Effect of ezetimibe monotherapy on the concentration of lipoprotein subfractions in patients with primary dyslipidaemia. *Curr Med Res Opin* 2007;23:1169-76.
326. Dujovne CA, Ettinger MP, McNeer JF, et al. Efficacy and safety of a potent new selective cholesterol absorption inhibitor, ezetimibe, in patients with primary hypercholesterolemia. *Am J Cardiol* 2002;90:1092-7.
327. Geiss HC, Otto C, Parhofer KG. Effect of ezetimibe on low-density lipoprotein subtype distribution: results of a placebo-controlled, double-blind trial in patients treated by regular low-density lipoprotein apheresis and statins. *Metabolism* 2006;55:599-604.
328. Florentin M, Liberopoulos EN, Moutzouri E, et al. The effect of simvastatin alone versus simvastatin plus ezetimibe on the concentration of small dense low-density lipoprotein cholesterol in subjects with primary hypercholesterolemia. *Curr Med Res Opin* 2011;27:685-92.
329. Berneis K, Rizzo M, Berthold HK, et al. Ezetimibe alone or in combination with simvastatin increases small dense low-density lipoproteins in healthy men: a randomized trial. *Eur Heart J* 2010;31:1633-9.

330. Miller M, DiNicolantonio JJ, Can M, et al. The effects of ezetimibe/simvastatin versus simvastatin monotherapy on platelet and inflammatory biomarkers in patients with metabolic syndrome. *Cardiology* 2013;125:74-7.
331. Moutzouri E, Tellis CC, Rousouli K, et al. Effect of simvastatin or its combination with ezetimibe on Toll-like receptor expression and lipopolysaccharide - induced cytokine production in monocytes of hypercholesterolemic patients. *Atherosclerosis* 2012;225:381-7.
332. Kostapanos MS, Spyrou AT, Tellis CC, et al. Ezetimibe treatment lowers indicators of oxidative stress in hypercholesterolemic subjects with high oxidative stress. *Lipids* 2011;46:341-8.
333. Avellone G, Di Garbo V, Guarnotta V, et al. Efficacy and safety of long-term ezetimibe/simvastatin treatment in patients with familial hypercholesterolemia. *Int Angiol* 2010;29:514-24.
334. Krysiak R, Zmuda W, Okopien B. The effect of ezetimibe and simvastatin on hemostasis in patients with isolated hypercholesterolemia. *Fundam Clin Pharmacol* 2012;26:424-31.
335. Nakamura T, Sato E, Amaha M, et al. Ezetimibe reduces urinary albumin excretion in hypercholesterolaemic type 2 diabetes patients with microalbuminuria. *J Int Med Res* 2012;40:798-803.
336. Nakamura T, Sato E, Fujiwara N, et al. Ezetimibe decreases serum levels of asymmetric dimethylarginine (ADMA) and ameliorates renal injury in non-diabetic chronic kidney disease patients in a cholesterol-independent manner. *Pharmacol Res* 2009;60:525-8.
337. Nakamura T, Sato E, Fujiwara N, et al. Co-administration of ezetimibe enhances proteinuria-lowering effects of pitavastatin in chronic kidney disease patients partly via a cholesterol-independent manner. *Pharmacol Res* 2010;61:58-61.
338. Almquist T, Jacobson SH, Lins PE, et al. Effects of lipid-lowering treatment on platelet reactivity and platelet-leukocyte aggregation in diabetic patients without and with chronic kidney disease: a randomized trial. *Nephrol Dial Transplant* 2012;27:3540-6.
339. Miyashita Y, Endo K, Saiki A, et al. Effect of ezetimibe monotherapy on lipid metabolism and arterial stiffness assessed by cardio-ankle vascular index in type 2 diabetic patients. *J Atheroscler Thromb* 2010;17:1070-6.

340. Yamagishi S, Nakamura K, Matsui T, et al. Inhibition of intestinal cholesterol absorption by ezetimibe is a novel therapeutic target for fatty liver. *Med Hypotheses* 2006;66:844-6.
341. Ahmed MH, Saad RA, Osman MM. Ezetimibe: effective and safe treatment for dyslipidaemia associated with nonalcoholic fatty liver disease. *Expert Opin Drug Saf* 2006;5:487-8.
342. Takeshita Y, Takamura T, Honda M, et al. The effects of ezetimibe on non-alcoholic fatty liver disease and glucose metabolism: a randomised controlled trial. *Diabetologia* 2014;57:878-90.
343. Park H, Shima T, Yamaguchi K, et al. Efficacy of long-term ezetimibe therapy in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol* 2011;46:101-7.
344. Filippatos TD, Elisaf MS. Role of ezetimibe in non-alcoholic fatty liver disease. *World J Hepatol* 2011;3:265-7.
345. Loomba R, Sirlin CB, Ang B, et al. Ezetimibe for the treatment of nonalcoholic steatohepatitis: assessment by novel magnetic resonance imaging and magnetic resonance elastography in a randomized trial (MOZART trial). *Hepatology* 2015;61:1239-50.
346. Bulut D, Hanefeld C, Bulut-Streich N, et al. Endothelial function in the forearm circulation of patients with the metabolic syndrome--effect of different lipid-lowering regimens. *Cardiology* 2005;104:176-80.
347. Fichtlscherer S, Schmidt-Lucke C, Bojunga S, et al. Differential effects of short-term lipid lowering with ezetimibe and statins on endothelial function in patients with CAD: clinical evidence for 'pleiotropic' functions of statin therapy. *Eur Heart J* 2006;27:1182-90.
348. Landmesser U, Bahlmann F, Mueller M, et al. Simvastatin versus ezetimibe: pleiotropic and lipid-lowering effects on endothelial function in humans. *Circulation* 2005;111:2356-63.
349. Tsunoda T, Nozue T, Yamada M, et al. Effects of ezetimibe on atherogenic lipoproteins and glucose metabolism in patients with diabetes and glucose intolerance. *Diabetes Res Clin Pract* 2013;100:46-52.
350. Takase H, Dohi Y, Okado T, et al. Effects of ezetimibe on visceral fat in the metabolic syndrome: a randomised controlled study. *Eur J Clin Invest* 2012;42:1287-94.

351. Moutzouri E, Liberopoulos E, Mikhailidis DP, et al. Comparison of the effects of simvastatin vs. rosuvastatin vs. simvastatin/ezetimibe on parameters of insulin resistance. *Int J Clin Pract* 2011;65:1141-8.
352. Kater AL, Batista MC, Ferreira SR. Improved endothelial function with simvastatin but unchanged insulin sensitivity with simvastatin or ezetimibe. *Metabolism* 2010;59:921-6.
353. Kastelein JJ, Akdim F, Stroes ES, et al. Simvastatin with or without ezetimibe in familial hypercholesterolemia. *N Engl J Med* 2008;358:1431-43.
354. Fleg JL, Mete M, Howard BV, et al. Effect of statins alone versus statins plus ezetimibe on carotid atherosclerosis in type 2 diabetes: the SANDS (Stop Atherosclerosis in Native Diabetics Study) trial. *J Am Coll Cardiol* 2008;52:2198-205.
355. Meaney A, Ceballos G, Asbun J, et al. The VYtorin on Carotid intima-media thickness and overall arterial rigidity (VYCTOR) study. *J Clin Pharmacol* 2009;49:838-47.
356. Villines TC, Stanek EJ, Devine PJ, et al. The ARBITER 6-HALTS Trial (Arterial Biology for the Investigation of the Treatment Effects of Reducing Cholesterol 6-HDL and LDL Treatment Strategies in Atherosclerosis): final results and the impact of medication adherence, dose, and treatment duration. *J Am Coll Cardiol* 2010;55:2721-6.
357. Rossebo AB, Pedersen TR, Boman K, et al. Intensive lipid lowering with simvastatin and ezetimibe in aortic stenosis. *N Engl J Med* 2008;359:1343-56.
358. Green A, Ramey DR, Emneus M, et al. Incidence of cancer and mortality in patients from the Simvastatin and Ezetimibe in Aortic Stenosis (SEAS) trial. *Am J Cardiol* 2014;114:1518-22.
359. Savarese G, De Ferrari GM, Rosano GM, et al. Safety and efficacy of ezetimibe: A meta-analysis. *Int J Cardiol* 2015;201:247-52.
360. Baigent C, Landray MJ, Reith C, et al. 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;377:2181-92.
361. Cannon CP, Blazing MA, Giugliano RP, et al. Ezetimibe Added to Statin Therapy after Acute Coronary Syndromes. *N Engl J Med* 2015;372:2387-97.
362. Ballantyne CM, Abate N, Yuan Z, et al. Dose-comparison study of the combination of ezetimibe and simvastatin (Vytorin) versus atorvastatin in patients with hypercholesterolemia: the Vytorin Versus Atorvastatin (VYVA) study. *Am Heart J* 2005;149:464-73.

363. Reckless JP, Henry P, Pomykaj T, et al. Lipid-altering efficacy of ezetimibe/simvastatin 10/40 mg compared with doubling the statin dose in patients admitted to the hospital for a recent coronary event: the INFORCE study. *Int J Clin Pract* 2008;62:539-54.
364. Xydakis AM, Guyton JR, Chiou P, et al. Effectiveness and tolerability of ezetimibe add-on therapy to a bile acid resin-based regimen for hypercholesterolemia. *Am J Cardiol* 2004;94:795-7.
365. Zema MJ. Colesevelam HCl and ezetimibe combination therapy provides effective lipid-lowering in difficult-to-treat patients with hypercholesterolemia. *Am J Ther* 2005;12:306-10.
366. Bays H, Rhyne J, Abby S, et al. Lipid-lowering effects of colesevelam HCl in combination with ezetimibe. *Curr Med Res Opin* 2006;22:2191-200.
367. Rivers SM, Kane MP, Busch RS, et al. Colesevelam hydrochloride-ezetimibe combination lipid-lowering therapy in patients with diabetes or metabolic syndrome and a history of statin intolerance. *Endocr Pract* 2007;13:11-6.
368. Knopp RH, Tsunehara C, Retzlaff BM, et al. Lipoprotein effects of combined ezetimibe and colesevelam hydrochloride versus ezetimibe alone in hypercholesterolemic subjects: a pilot study. *Metabolism* 2006;55:1697-703.
369. Nakou ES, Filippatos TD, Georgoula M, et al. The effect of orlistat and ezetimibe, alone or in combination, on serum LDL and small dense LDL cholesterol levels in overweight and obese patients with hypercholesterolaemia. *Curr Med Res Opin* 2008;24:1919-29.
370. Florentin M, Liberopoulos EN, Elisaf MS. Ezetimibe-associated adverse effects: what the clinician needs to know. *Int J Clin Pract* 2008;62:88-96.
371. Davidson MH, Ballantyne CM, Kerzner B, et al. Efficacy and safety of ezetimibe coadministered with statins: randomised, placebo-controlled, blinded experience in 2382 patients with primary hypercholesterolemia. *Int J Clin Pract* 2004;58:746-55.
372. Feldman T, Koren M, Insull W, Jr., et al. Treatment of high-risk patients with ezetimibe plus simvastatin co-administration versus simvastatin alone to attain National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III low-density lipoprotein cholesterol goals. *Am J Cardiol* 2004;93:1481-6.

373. Ballantyne CM, Blazing MA, King TR, et al. Efficacy and safety of ezetimibe co-administered with simvastatin compared with atorvastatin in adults with hypercholesterolemia. *Am J Cardiol* 2004;93:1487-94.
374. Stein E, Stender S, Mata P, et al. Achieving lipoprotein goals in patients at high risk with severe hypercholesterolemia: efficacy and safety of ezetimibe co-administered with atorvastatin. *Am Heart J* 2004;148:447-55.
375. Goldberg AC, Sapre A, Liu J, et al. Efficacy and safety of ezetimibe coadministered with simvastatin in patients with primary hypercholesterolemia: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Mayo Clin Proc* 2004;79:620-9.
376. Bays HE, Ose L, Fraser N, et al. A multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, factorial design study to evaluate the lipid-altering efficacy and safety profile of the ezetimibe/simvastatin tablet compared with ezetimibe and simvastatin monotherapy in patients with primary hypercholesterolemia. *Clin Ther* 2004;26:1758-73.
377. Gagne C, Bays HE, Weiss SR, et al. Efficacy and safety of ezetimibe added to ongoing statin therapy for treatment of patients with primary hypercholesterolemia. *Am J Cardiol* 2002;90:1084-91.
378. Davidson MH, Maccubbin D, Stepanavage M, et al. Striated muscle safety of ezetimibe/simvastatin (Vytorin). *Am J Cardiol* 2006;97:223-8.
379. Kosoglou T, Statkevich P, Meyer I, et al. Effects of ezetimibe on the pharmacodynamics and pharmacokinetics of lovastatin. *Curr Med Res Opin* 2004;20:955-65.
380. Ballantyne CM, Hourii J, Notarbartolo A, et al. Effect of ezetimibe coadministered with atorvastatin in 628 patients with primary hypercholesterolemia: a prospective, randomized, double-blind trial. *Circulation* 2003;107:2409-15.
381. Kerzner B, Corbelli J, Sharp S, et al. Efficacy and safety of ezetimibe coadministered with lovastatin in primary hypercholesterolemia. *Am J Cardiol* 2003;91:418-24.
382. Melani L, Mills R, Hassman D, et al. Efficacy and safety of ezetimibe coadministered with pravastatin in patients with primary hypercholesterolemia: a prospective, randomized, double-blind trial. *Eur Heart J* 2003;24:717-28.
383. Davidson MH, McGarry T, Bettis R, et al. Ezetimibe coadministered with simvastatin in patients with primary hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol* 2002;40:2125-34.

384. Landray M, Baigent C, Leaper C, et al. The second United Kingdom Heart and Renal Protection (UK-HARP-II) Study: a randomized controlled study of the biochemical safety and efficacy of adding ezetimibe to simvastatin as initial therapy among patients with CKD. *Am J Kidney Dis* 2006;47:385-95.
385. Ahmad I, Ruby E, Usman H, et al. Ezetimibe-induced acute pancreatitis. *South Med J* 2007;100:409-10.
386. Packard CJ, Shepherd J. Lipoprotein heterogeneity and apolipoprotein B metabolism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:3542-56.
387. Austin MA, Breslow JL, Hennekens CH, et al. Low-density lipoprotein subclass patterns and risk of myocardial infarction. *JAMA* 1988;260:1917-21.
388. Packard CJ. Triacylglycerol-rich lipoproteins and the generation of small, dense low-density lipoprotein. *Biochem Soc Trans* 2003;31:1066-9.
389. Benton JL, Blumenthal RS, Becker DM, et al. Predictors of low-density lipoprotein particle size in a high-risk African-American population. *Am J Cardiol* 2005;95:1320-3.
390. Berneis KK, Krauss RM. Metabolic origins and clinical significance of LDL heterogeneity. *J Lipid Res* 2002;43:1363-79.
391. Rizzo M, Berneis K. Should we measure routinely the LDL peak particle size? *Int J Cardiol* 2006;107:166-70.
392. Krauss RM. Dietary and genetic probes of atherogenic dyslipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:2265-72.
393. Kwiterovich POJ. Clinical relevance of the biochemical, metabolic, and genetic factors that influence low-density lipoprotein heterogeneity. *Am J Cardiol* 2002;90:30i-47i.
394. Packard CJ, Caslake M, Shepherd J. The role of small, dense low density lipoprotein (LDL): a new look. *Int J Cardiol* 2000;74 (Suppl 1):S17-S22.
395. Slyper AH. Low-density lipoprotein density and atherosclerosis: unraveling the connection. *JAMA* 1994;272:305-8.
396. Austin MA, Breslow JL, Hennekens CH, et al. Low-density lipoprotein subclass patterns and risk of myocardial infarction. *JAMA* 1988;260:1917-21.
397. Austin MA, Talmud PJ, Luong LA, et al. Candidate-gene studies of the atherogenic lipoprotein phenotype: a sib-pair linkage analysis of DZ women twins. *Am J Hum Genet* 1998;62:406-19.
398. Austin MA. Genetic and environmental influences on LDL subclass phenotypes. *Clin Genet* 1994;46(1 Spec No):64-70.

399. Austin MA, Krauss RM. LDL density and atherosclerosis. *JAMA* 1995;273:115.
400. Friedlander Y, Kark JD, Sinnreich R, et al. Inheritance of LDL peak particle diameter: results from a segregation analysis in Israeli families. *Genet Epidemiol* 1999;16:382-96.
401. Edwards KL, Mahaney MC, Motulsky AG, et al. Pleiotropic genetic effects on LDL size, plasma triglyceride, and HDL cholesterol in families. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:2456-64.
402. Bosse Y, Perusse L, Vohl MC. Genetics of LDL particle heterogeneity: from genetic epidemiology to DNA-based variations. *J Lipid Res* 2004;45:1008-26.
403. Czerwinski SA, Mahaney MC, Rainwater DL, et al. Gene by smoking interaction: evidence for effects on low-density lipoprotein size and plasma levels of triglyceride and high-density lipoprotein cholesterol. *Hum Biol* 2004;76:863-76.
404. Shearman AM, Demissie S, Cupples LA, et al. Tobacco smoking, estrogen receptor a gene variation and small low density lipoprotein level. *Hum Mol Genet* 2005;14:2405-13.
405. Siri PW, Krauss RM. Influence of dietary carbohydrate and fat on LDL and HDL particle size. *Curr Atheroscler Rep* 2005;7:455-9.
406. Dreon DM, Krauss RM. Diet-gene interactions in human lipoprotein metabolism. *J Am Coll Nutr* 1997;16:313-24.
407. Krauss RM. Dietary and genetic effects on low-density lipoprotein heterogeneity. *Annu Rev Nutr* 2001;21:283-95.
408. Luc G, Bard JM, Poulain P, et al. Relationship between low-density lipoprotein size and apolipoprotein A-I-containing particles: the ECTIM study. *Eur J Clin Invest* 1997;27:242-7.
409. Carr MC, Ayyobi AF, Murdoch SJ, et al. Contribution of hepatic lipase, lipoprotein lipase, and cholesteryl ester transfer protein to LDL and HDL heterogeneity in healthy women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22:667-73.
410. Wang J, Qiang H, Chen D, et al. CETP gene mutation (D442G) increases low-density lipoprotein particle size in patients with coronary heart disease. *Clin Chim Acta* 2002;322:85-90.
411. Talmud PJ, Edwards KL, Turner CM, et al. Linkage of the cholesteryl ester transfer protein (CETP) gene to LDL particle size: use of a novel tetranucleotide repeat within the CETP promoter. *Circulation* 2000;101:2461-6.

412. Skoglund-Andersson C, Ehrenborg E, Fisher RM, et al. Influence of common variants in the CETP, LPL, HL and APO E genes on LDL heterogeneity in healthy, middle-aged men. *Atherosclerosis* 2003;167:311-7.
413. Havel RJ. Genetic underpinnings of LDL size and density: a role for hepatic lipase? *Am J Clin Nutr* 2000;71:1390-1.
414. Ichikawa T, Kitajima S, Liang J, et al. Overexpression of lipoprotein lipase in transgenic rabbits leads to increased small dense LDL in plasma and promotes atherosclerosis. *Lab Invest* 2004;84:715-26.
415. Esteve E, Faure E, Calvo F, et al. SNP3 polymorphism in apo A-V gene is associated with small dense LDL particles in type 2 diabetes. *Diabetologia* 2004;47:355-6.
416. Austin MA, Talmud PJ, Farin FM, et al. Association of apolipoprotein A5 variants with LDL particle size and triglyceride in Japanese Americans. *Biochim Biophys Acta* 2004;1688:1-9.
417. Hogue JC, Lamarche B, Gaudet D, et al. Genotype of the mutant LDL receptor allele is associated with LDL particle size heterogeneity in familial combined hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 2006;184:163-70.
418. Nielsen LB. Transfer of low-density lipoprotein into the arterial wall and risk of atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1996;123:1-15.
419. Anber V, Millar JS, McConnel M, et al. Interaction of very low-density, intermediate-density and low-density lipoproteins with human arterial wall proteoglycans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:2507-14.
420. Krauss RM. Atherogenic lipoprotein phenotype and diet-gene interactions. *J Nutr* 2001;131:340S-3S.
421. Sattar N, Petrie JR, Jaap AJ. The atherogenic lipoprotein phenotype and vascular endothelial dysfunction. *Atherosclerosis* 1998;138:229-35.
422. Woodman RJ, Watts GF, Playford DA, et al. Oxidized LDL and small LDL particle size are independently predictive of a selective defect in microcirculatory endothelial function in type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab* 2005;7:612-7.
423. Nigon F, Lesnic P, Rouis M, et al. Discrete subspecies of human low-density lipoproteins are heterogeneous in their interaction with the cellular LDL receptor. *J Lipid Res* 1991;32:1741-53.

424. Galeano NF, Milne R, Marcel YL, et al. Apoprotein B structure and receptor recognition of triacylglyceride-rich low-density lipoprotein (LDL) is modified in small LDL but not in triglyceride-rich LDL of normal size. *J Biol Chem* 1994;269:511-9.
425. Galeano NF, Al Haiseri M, Keyserman F, et al. Small dense low density lipoprotein has increased affinity for LDL receptor-independent cell surface binding sites: A potential mechanism for increased atherogenicity. *J Lipid Res* 1998;39:1263-73.
426. Toyota Y, Yamamura T, Miyake Y, et al. Low density lipoprotein (LDL) binding affinity for the LDL receptor in hyperlipoproteinemia. *Atherosclerosis* 1999;147:77-86.
427. Rizzo M, Berneis K. Low-density lipoprotein size and cardiovascular risk assessment. *QJM* 2006;99:1-14.
428. Karmena R, Duriez P, Fruchart JC. Atherogenic lipoprotein particles in atherosclerosis. *Circulation* 2004;109:III2-III7.
429. Campos H, Genest JJ, Blijlevens E, et al. Low density lipoprotein particle size and coronary artery disease. *Arterioscler Thromb* 1992;12:187-95.
430. Coresh J, Kwiterovich PJ, Smith H, et al. Association of plasma triglyceride concentration and LDL diameter density, and chemical composition with premature coronary artery disease in men and women. *J Lipid Res* 1993;34:1687-97.
431. Tornvall P, Karpe F, Carlson LA, et al. Relationships of low density lipoprotein subfractions to angiographically defined coronary artery disease in young survivors of myocardial infarction. *Atherosclerosis* 1991;90:67-80.
432. Koba S, Hirano T, Kondo T, et al. Significance of small dense low-density lipoproteins and other risk factors in patients with various types of coronary heart disease. *Am Heart J* 2002;144:1026-35.
433. Yoon Y, Song J, Park HD, et al. Significance of small dense low-density lipoproteins as coronary risk factor in diabetic and non-diabetic Korean populations. *Clin Chem Lab Med* 2005;43:431-7.
434. Gardner CD, Formann SP, Krauss RM. Association of small low-density lipoprotein particles with the incidence of coronary artery disease in men and women. *JAMA* 1996;276:875-81.
435. Lamarche B, Tchernof A, Moorjani S, et al. Small, dense low-density lipoprotein particles as a predictor of the risk of ischemic heart disease in men. *Circulation* 1997;95:69-75.

436. Stampfer MJ, Krauss RM, Ma J, et al. A prospective study of triglyceride levels, low-density lipoprotein particle diameter, and risk of myocardial infarction. *JAMA* 1996;276:882-8.
437. Austin MA, Rodriguez BL, McKnight B, et al. Low-density lipoprotein particle size, triglycerides, and high-density lipoprotein cholesterol as risk factors for coronary heart disease in older Japanese-American men. *Am J Cardiol* 2000;86:412-6.
438. Koba S, Hirano T, Ito Y, et al. Significance of small dense low-density lipoprotein-cholesterol concentrations in relation to the severity of coronary heart diseases. *Atherosclerosis* 2006;189:206-14.
439. Arsenault BJ, Lemieux I, Despres JP, et al. Cholesterol levels in small LDL particles predict the risk of coronary heart disease in the EPIC-Norfolk prospective population study. *Eur Heart J* 2007;28:2770-7.
440. Rizzo M, Berneis K. The role of small, dense low-density-lipoproteins in non-coronary forms of atherosclerosis. *Vasc Dis Prevent* 2006;3:269-74.
441. Skoglund-Andersson C, Tang R, Bond MG, et al. LDL particle size distribution is associated with carotid intima-media thickness in healthy 50-year-old men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:2422-30.
442. Hallman DM, Brown SA, Ballantyne CM, et al. Relationship between low-density lipoprotein subclasses and asymptomatic atherosclerosis in subjects from the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Biomarkers* 2004;9:190-202.
443. Campos H, Roederer GO, Lussier-Cacan S, et al. Predominance of large LDL and reduced HDL₂ cholesterol in normolipidemic men with coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995;15:1043-8.
444. Campos H, Moye LA, Glasser SP, et al. Low-density lipoprotein size, pravastatin treatment, and coronary events. *J Am Med Assoc* 2001;286:1468-74.
445. Benveniste J. Release of platelet-activating factor by peritoneal and alveolar macrophages. *Monogr Allergy* 1979;14:138-41.
446. Camussi G, Aglietta M, Malavasi F, et al. The release of platelet-activating factor from human endothelial cells in culture. *J Immunol* 1983;131:2397-403.
447. Camussi G, Bussolino F, Aglietta M, et al. The release of platelet-activating factor during phagocytosis by polymorphonuclear neutrophils and monocytes. *Adv Exp Med Biol* 1982;141:259-68.

448. McManus LM. Pathobiology of platelet-activating factors. *Pathol Immunopathol Res* 1986;5:104-17.
449. Shaw JO, Pinckard RN, Ferrigni KS, et al. Activation of human neutrophils with 1-O-hexadecyl/octadecyl-2-acetyl-sn-glycerol-3-phosphorylcholine (platelet activating factor). *J Immunol* 1981;127:1250-5.
450. Hanahan DJ. Platelet activating factor: a biologically active phosphoglyceride. *Annu Rev Biochem* 1986;55:483-509.
451. Farr RS, Cox CP, Wardlow ML, et al. Preliminary studies of an acid-labile factor (ALF) in human sera that inactivates platelet-activating factor (PAF). *Clin Immunol Immunopathol* 1980;15:318-30.
452. Blank ML, Lee T, Fitzgerald V, et al. A specific acetylhydrolase for 1-alkyl-2-acetyl-sn-glycerol-3-phosphocholine (a hypotensive and platelet-activating lipid). *J Biol Chem* 1981;256:175-8.
453. Stafforini DM, Prescott SM, McIntyre TM. Human plasma platelet-activating factor acetylhydrolase. Purification and properties. *J Biol Chem* 1987;262:4223-30.
454. Tjoelker LW, Eberhardt C, Unger J, et al. Plasma platelet-activating factor acetylhydrolase is a secreted phospholipase A2 with a catalytic triad. *J Biol Chem* 1995;270:25481-7.
455. Stafforini DM, Elstad MR, McIntyre TM, et al. Human macrophages secrete platelet-activating factor acetylhydrolase. *J Biol Chem* 1990;265:9682-7.
456. Suzuki Y, Miwa M, Harada M, et al. Release of acetylhydrolase from platelets on aggregation with platelet-activating factor. *Eur J Biochem* 1988;172:117-20.
457. Korth R, Bidault J, Palmantier R, et al. Human platelets release a paf-acether: acetylhydrolase similar to that in plasma. *Lipids* 1993;28:193-9.
458. Nakajima K, Murakami M, Yanoshita R, et al. Activated mast cells release extracellular type platelet-activating factor acetylhydrolase that contributes to autocrine inactivation of platelet-activating factor. *J Biol Chem* 1997;272:19708-13.
459. Tarbet EB, Stafforini DM, Elstad MR, et al. Liver cells secrete the plasma form of platelet-activating factor acetylhydrolase. *J Biol Chem* 1991;266:16667-73.
460. McIntyre TM, Prescott SM, Stafforini DM. The emerging roles of PAF acetylhydrolase. *J Lipid Res* 2009;50 Suppl:S255-9.

461. Tsoukatos DC, Brocheriou I, Moussis V, et al. Platelet-activating factor acetylhydrolase and transacetylase activities in human aorta and mammary artery. *J Lipid Res* 2008;49:2240-9.
462. Svetlov SI, Sturm E, Olson MS, et al. Hepatic regulation of platelet-activating factor acetylhydrolase and lecithin:cholesterol acyltransferase biliary and plasma output in rats exposed to bacterial lipopolysaccharide. *Hepatology* 1999;30:128-36.
463. Tsimihodimos V, Karabina SA, Tambaki AP, et al. Atorvastatin preferentially reduces LDL-associated platelet-activating factor acetylhydrolase activity in dyslipidemias of type IIA and type IIB. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22:306-11.
464. Stafforini DM. Biology of platelet-activating factor acetylhydrolase (PAF-AH, lipoprotein associated phospholipase A2). *Cardiovasc Drugs Ther* 2009;23:73-83.
465. Tselepis AD, Dentan C, Karabina SA, et al. PAF-degrading acetylhydrolase is preferentially associated with dense LDL and VHDL-1 in human plasma. Catalytic characteristics and relation to the monocyte-derived enzyme. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995;15:1764-73.
466. Gaubatz JW, Gillard BK, Massey JB, et al. Dynamics of dense electronegative low density lipoproteins and their preferential association with lipoprotein phospholipase A(2). *J Lipid Res* 2007;48:348-57.
467. Blencowe C, Hermetter A, Kostner GM, et al. Enhanced association of platelet-activating factor acetylhydrolase with lipoprotein (a) in comparison with low density lipoprotein. *J Biol Chem* 1995;270:31151-7.
468. Tsimikas S, Tsironis LD, Tselepis AD. New insights into the role of lipoprotein(a)-associated lipoprotein-associated phospholipase A2 in atherosclerosis and cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007;27:2094-9.
469. Ambrosio G, Oriente A, Napoli C, et al. Oxygen radicals inhibit human plasma acetylhydrolase, the enzyme that catabolizes platelet-activating factor. *J Clin Invest* 1994;93:2408-16.
470. Stafforini DM, McIntyre TM, Prescott SM. Platelet-activating factor acetylhydrolase from human plasma. *Methods Enzymol* 1990;187:344-57.
471. Bielicki JK, Knoff LJ, Tribble DL, et al. Relative sensitivities of plasma lecithin:cholesterol acyltransferase, platelet-activating factor acetylhydrolase, and paraoxonase to in vitro gas-phase cigarette smoke exposure. *Atherosclerosis* 2001;155:71-8.

472. Cao Y, Stafforini DM, Zimmerman GA, et al. Expression of plasma platelet-activating factor acetylhydrolase is transcriptionally regulated by mediators of inflammation. *J Biol Chem* 1998;273:4012-20.
473. Narahara H, Frenkel RA, Johnston JM. Secretion of platelet-activating factor acetylhydrolase following phorbol ester-stimulated differentiation of HL-60 cells. *Arch Biochem Biophys* 1993;301:275-81.
474. Wu X, Zimmerman GA, Prescott SM, et al. The p38 MAPK pathway mediates transcriptional activation of the plasma platelet-activating factor acetylhydrolase gene in macrophages stimulated with lipopolysaccharide. *J Biol Chem* 2004;279:36158-65.
475. Shi Y, Zhang P, Zhang L, et al. Role of lipoprotein-associated phospholipase A2 in leukocyte activation and inflammatory responses. *Atherosclerosis* 2007;191:54-62.
476. Elstad MR, Stafforini DM, McIntyre TM, et al. Platelet-activating factor acetylhydrolase increases during macrophage differentiation. A novel mechanism that regulates accumulation of platelet-activating factor. *J Biol Chem* 1989;264:8467-70.
477. Zalewski A, Macphee C. Role of lipoprotein-associated phospholipase A2 in atherosclerosis: biology, epidemiology, and possible therapeutic target. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:923-31.
478. Karabina SA, Elisaf M, Bairaktari E, et al. Increased activity of platelet-activating factor acetylhydrolase in low-density lipoprotein subfractions induces enhanced lysophosphatidylcholine production during oxidation in patients with heterozygous familial hypercholesterolaemia. *Eur J Clin Invest* 1997;27:595-602.
479. Karabina SA, Liapikos TA, Grekas G, et al. Distribution of PAF-acetylhydrolase activity in human plasma low-density lipoprotein subfractions. *Biochim Biophys Acta* 1994;1213:34-8.
480. Zalewski A, Nelson JJ, Hegg L, et al. Lp-PLA2: a new kid on the block. *Clin Chem* 2006;52:1645-50.
481. Tselepis AD, John Chapman M. Inflammation, bioactive lipids and atherosclerosis: potential roles of a lipoprotein-associated phospholipase A2, platelet activating factor-acetylhydrolase. *Atheroscler Suppl* 2002;3:57-68.
482. Stafforini DM, Zimmerman GA, McIntyre TM, et al. The platelet-activating factor acetylhydrolase from human plasma prevents oxidative modification of low-density lipoprotein. *Trans Assoc Am Physicians* 1992;105:44-63.

483. Navab M, Hama SY, Hough GP, et al. High density associated enzymes: their role in vascular biology. *Curr Opin Lipidol* 1998;9:449-56.
484. Satoh K, Imaizumi T, Yoshida H, et al. Platelet-activating factor acetylhydrolase in plasma lipoproteins of healthy men and women. *Clin Chim Acta* 1991;202:95-103.
485. Kosaka T, Yamaguchi M, Miyanaga K, et al. Serum platelet-activating factor acetylhydrolase (PAF-AH) activity in more than 3000 healthy Japanese. *Clin Chim Acta* 2001;312:179-83.
486. Brilakis ES, Khera A, McGuire DK, et al. Influence of race and sex on lipoprotein-associated phospholipase A2 levels: observations from the Dallas Heart Study. *Atherosclerosis* 2008;199:110-5.
487. Yasuda K, Johnston JM. The hormonal regulation of platelet-activating factor-acetylhydrolase in the rat. *Endocrinology* 1992;130:708-16.
488. Guerra R, Zhao B, Mooser V, et al. Determinants of plasma platelet-activating factor acetylhydrolase: heritability and relationship to plasma lipoproteins. *J Lipid Res* 1997;38:2281-8.
489. Caslake MJ, Packard CJ, Suckling KE, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A(2), platelet-activating factor acetylhydrolase: a potential new risk factor for coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2000;150:413-9.
490. Kujiraoka T, Iwasaki T, Ishihara M, et al. Altered distribution of plasma PAF-AH between HDLs and other lipoproteins in hyperlipidemia and diabetes mellitus. *J Lipid Res* 2003;44:2006-14.
491. Packard CJ, O'Reilly DS, Caslake MJ, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 as an independent predictor of coronary heart disease. West of Scotland Coronary Prevention Study Group. *N Engl J Med* 2000;343:1148-55.
492. Ballantyne CM, Hoogeveen RC, Bang H, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2, high-sensitivity C-reactive protein, and risk for incident coronary heart disease in middle-aged men and women in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Circulation* 2004;109:837-42.
493. Koenig W, Khuseyinova N, Lowel H, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 adds to risk prediction of incident coronary events by C-reactive protein in apparently healthy middle-aged men from the general population: results from the 14-year follow-up of a large cohort from southern Germany. *Circulation* 2004;110:1903-8.

494. Oei HH, van der Meer IM, Hofman A, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 activity is associated with risk of coronary heart disease and ischemic stroke: the Rotterdam Study. *Circulation* 2005;111:570-5.
495. Kiechl S, Willeit J, Mayr M, et al. Oxidized phospholipids, lipoprotein(a), lipoprotein-associated phospholipase A2 activity, and 10-year cardiovascular outcomes: prospective results from the Bruneck study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007;27:1788-95.
496. Daniels LB, Laughlin GA, Sarno MJ, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 is an independent predictor of incident coronary heart disease in an apparently healthy older population: the Rancho Bernardo Study. *J Am Coll Cardiol* 2008;51:913-9.
497. Koenig W, Khuseyinova N. Lipoprotein-associated and secretory phospholipase A2 in cardiovascular disease: the epidemiological evidence. *Cardiovasc Drugs Ther* 2009;23:85-92.
498. Ballantyne CM, Hoogeveen RC, Bang H, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2, high-sensitivity C-reactive protein, and risk for incident ischemic stroke in middle-aged men and women in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Arch Intern Med* 2005;165:2479-84.
499. Garza CA, Montori VM, McConnell JP, et al. Association between lipoprotein-associated phospholipase A2 and cardiovascular disease: a systematic review. *Mayo Clin Proc* 2007;82:159-65.
500. Davidson MH, Corson MA, Alberts MJ, et al. Consensus panel recommendation for incorporating lipoprotein-associated phospholipase A2 testing into cardiovascular disease risk assessment guidelines. *Am J Cardiol* 2008;101:51F-7F.
501. Serruys PW, Garcia-Garcia HM, Buszman P, et al. Effects of the direct lipoprotein-associated phospholipase A(2) inhibitor darapladib on human coronary atherosclerotic plaque. *Circulation* 2008;118:1172-82.
502. Johnson JL, Shi Y, Snipes R, et al. Effect of darapladib treatment on endarterectomy carotid plaque lipoprotein-associated phospholipase A2 activity: a randomized, controlled trial. *PLoS One* 2014;9:e89034.
503. White HD, Held C, Stewart R, et al. Darapladib for preventing ischemic events in stable coronary heart disease. *N Engl J Med* 2014;370:1702-11.

504. O'Donoghue ML, Braunwald E, White HD, et al. Effect of darapladib on major coronary events after an acute coronary syndrome: the SOLID-TIMI 52 randomized clinical trial. *JAMA* 2014;312:1006-15.
505. Gupta N, Gill K, Singh S. Paraoxonases: structure, gene polymorphism & role in coronary artery disease. *Indian J Med Res* 2009;130:361-8.
506. Durrington PN, Mackness B, Mackness MI. Paraoxonase and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:473-80.
507. Aviram M, Billecke S, Sorenson R, et al. 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;18:1617-24.
508. Mackness B, Mackness MI, Durrington PN, et al. Paraoxonase activity in two healthy populations with differing rates of coronary heart disease. *Eur J Clin Invest* 2000;30:4-10.
509. Mackness MI, Arrol S, Mackness B, et al. Alloenzymes of paraoxonase and effectiveness of high-density lipoproteins in protecting low-density lipoprotein against lipid peroxidation. *Lancet* 1997;349:851-2.
510. Mackness B, Mackness MI, Arrol S, et al. Effect of the human serum paraoxonase 55 and 192 genetic polymorphisms on the protection by high density lipoprotein against low density lipoprotein oxidative modification. *FEBS Lett* 1998;423:57-60.
511. McElveen J, Mackness MI, Colley CM, et al. Distribution of paraoxon hydrolytic activity in the serum of patients after myocardial infarction. *Clin Chem* 1986;32:671-3.
512. Ayub A, Mackness MI, Arrol S, et al. Serum paraoxonase after myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:330-5.
513. Sanghera DK, Aston CE, Saha N, et al. DNA polymorphisms in two paraoxonase genes (PON1 and PON2) are associated with the risk of coronary heart disease. *Am J Hum Genet* 1998;62:36-44.
514. Schmidt R, Schmidt H, Fazekas F, et al. MRI cerebral white matter lesions and paraoxonase PON1 polymorphisms : three-year follow-up of the austrian stroke prevention study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:1811-6.
515. Dahabreh IJ, Kitsios GD, Kent DM, et al. Paraoxonase 1 polymorphisms and ischemic stroke risk: A systematic review and meta-analysis. *Genet Med* 2010;12:606-15.

516. Mackness MI, Mackness B, Durrington PN, et al. Paraonase: biochemistry, genetics and relationship to plasma lipoproteins. *Curr Opin Lipidol* 1996;7:69-76.
517. Mackness M, Boullier A, Hennuyer N, et al. Paraonase activity is reduced by a pro-atherosclerotic diet in rabbits. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;269:232-6.
518. Sutherland WH, Walker RJ, de Jong SA, et al. Reduced postprandial serum paraonase activity after a meal rich in used cooking fat. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:1340-7.
519. van der Gaag MS, van Tol A, Scheek LM, et al. Daily moderate alcohol consumption increases serum paraonase activity; a diet-controlled, randomised intervention study in middle-aged men. *Atherosclerosis* 1999;147:405-10.
520. Van Lenten BJ, Hama SY, de Beer FC, et al. Anti-inflammatory HDL becomes pro-inflammatory during the acute phase response. Loss of protective effect of HDL against LDL oxidation in aortic wall cell cocultures. *J Clin Invest* 1995;96:2758-67.
521. Feingold KR, Memon RA, Moser AH, et al. Paraonase activity in the serum and hepatic mRNA levels decrease during the acute phase response. *Atherosclerosis* 1998;139:307-15.
522. Hedrick CC, Hassan K, Hough GP, et al. Short-term feeding of atherogenic diet to mice results in reduction of HDL and paraonase that may be mediated by an immune mechanism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:1946-52.
523. Aslan M, Horoz M, Sabuncu T, et al. Serum paraonase enzyme activity and oxidative stress in obese subjects. *Pol Arch Med Wewn* 2011;121:181-6.
524. Garin MC, Kalix B, Morabia A, et al. Small, dense lipoprotein particles and reduced paraonase-1 in patients with the metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:2264-9.
525. Senti M, Tomas M, Fito M, et al. Antioxidant paraonase 1 activity in the metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:5422-6.
526. Rizos E, Tambaki AP, Gazi I, et al. Lipoprotein-associated PAF-acetylhydrolase activity in subjects with the metabolic syndrome. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2005;72:203-9.
527. Tabur S, Torun AN, Sabuncu T, et al. Non-diabetic metabolic syndrome and obesity do not affect serum paraonase and arylesterase activities but do affect oxidative stress and inflammation. *Eur J Endocrinol* 2010;162:535-41.

528. Mackness MI, Harty D, Bhatnagar D, et al. Serum paraoxonase activity in familial hypercholesterolaemia and insulin-dependent diabetes mellitus. *Atherosclerosis* 1991;86:193-9.
529. Abbott CA, Mackness MI, Kumar S, et al. Serum paraoxonase activity, concentration, and phenotype distribution in diabetes mellitus and its relationship to serum lipids and lipoproteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995;15:1812-8.
530. Mackness B, Mackness MI, Arrol S, et al. Serum paraoxonase (PON1) 55 and 192 polymorphism and paraoxonase activity and concentration in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Atherosclerosis* 1998;139:341-9.
531. Ikeda Y, Suehiro T, Inoue M, et al. Serum paraoxonase activity and its relationship to diabetic complications in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Metabolism* 1998;47:598-602.
532. Hasselwander O, McMaster D, Fogarty DG, et al. Serum paraoxonase and platelet-activating factor acetylhydrolase in chronic renal failure. *Clin Chem* 1998;44:179-81.
533. Paragh G, Seres I, Balogh Z, et al. The serum paraoxonase activity in patients with chronic renal failure and hyperlipidemia. *Nephron* 1998;80:166-70.
534. Dantoine TF, Debord J, Charmes JP, et al. Decrease of serum paraoxonase activity in chronic renal failure. *J Am Soc Nephrol* 1998;9:2082-8.
535. Liberopoulos EN, Papavasiliou E, Miltiadous GA, et al. Alterations of paraoxonase and platelet-activating factor acetylhydrolase activities in patients on peritoneal dialysis. *Perit Dial Int* 2004;24:580-9.
536. Abdin AA, Hassanien MA, Ibrahim EA, et al. Modulating effect of atorvastatin on paraoxonase 1 activity in type 2 diabetic Egyptian patients with or without nephropathy. *J Diabetes Complications* 2010;24:325-33.
537. Harangi M, Mirdamadi HZ, Seres I, et al. Atorvastatin effect on the distribution of high-density lipoprotein subfractions and human paraoxonase activity. *Transl Res* 2009;153:190-8.
538. Kassai A, Illyes L, Mirdamadi HZ, et al. The effect of atorvastatin therapy on lecithin:cholesterol acyltransferase, cholesteryl ester transfer protein and the antioxidant paraoxonase. *Clin Biochem* 2007;40:1-5.
539. Harangi M, Seres I, Varga Z, et al. Atorvastatin effect on high-density lipoprotein-associated paraoxonase activity and oxidative DNA damage. *Eur J Clin Pharmacol* 2004;60:685-91.

540. Muacevic-Katanec D, Bradamante V, Poljicanin T, et al. Clinical study on the effect of simvastatin on paraoxonase activity. *Arzneimittelforschung* 2007;57:647-53.
541. Deakin S, Leviev I, Guernier S, et al. Simvastatin modulates expression of the PON1 gene and increases serum paraoxonase: a role for sterol regulatory element-binding protein-2. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:2083-9.
542. Tomas M, Senti M, Garcia-Faria F, et al. Effect of simvastatin therapy on paraoxonase activity and related lipoproteins in familial hypercholesterolemic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:2113-9.
543. Dullaart RP, de Vries R, Voorbij HA, et al. Serum paraoxonase-I activity is unaffected by short-term administration of simvastatin, bezafibrate, and their combination in type 2 diabetes mellitus. *Eur J Clin Invest* 2009;39:200-3.
544. Paragh G, Torocsik D, Seres I, et al. Effect of short term treatment with simvastatin and atorvastatin on lipids and paraoxonase activity in patients with hyperlipoproteinaemia. *Curr Med Res Opin* 2004;20:1321-7.
545. Balogh Z, Seres I, Harangi M, et al. Gemfibrozil increases paraoxonase activity in type 2 diabetic patients. A new hypothesis of the beneficial action of fibrates? *Diabetes Metab* 2001;27:604-10.
546. Turfaner N, Uzun H, Balci H, et al. Ezetimibe therapy and its influence on oxidative stress and fibrinolytic activity. *South Med J* 2010;103:428-33.
547. Audikovszky M, Pados G, Seres I, et al. Orlistat increases serum paraoxonase activity in obese patients. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2007;17:268-73.
548. Fried SK, Ricci MR, Russell CD, et al. Regulation of leptin production in humans. *J Nutr* 2000;130:3127S-31S.
549. Gao S, Kinzig KP, Aja S, et al. Leptin activates hypothalamic acetyl-CoA carboxylase to inhibit food intake. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104:17358-63.
550. Seufert J. Leptin effects on pancreatic beta-cell gene expression and function. *Diabetes* 2004;53 Suppl 1:S152-8.
551. Hileman SM, Pierroz DD, Flier JS. Leptin, nutrition, and reproduction: timing is everything. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:804-7.
552. Crujeiras AB, Carreira MC, Cabia B, et al. Leptin resistance in obesity: An epigenetic landscape. *Life Sci* 2015;140:57-63.

553. Wallace AM, McMahon AD, Packard CJ, et al. Plasma leptin and the risk of cardiovascular disease in the west of Scotland coronary prevention study (WOSCOPS). *Circulation* 2001;104:3052-6.
554. Reilly MP, Iqbal N, Schutta M, et al. Plasma leptin levels are associated with coronary atherosclerosis in type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:3872-8.
555. Sainz N, Barrenetxe J, Moreno-Aliaga MJ, et al. Leptin resistance and diet-induced obesity: central and peripheral actions of leptin. *Metabolism* 2015;64:35-46.
556. Brochu-Gaudreau K, Rehfeldt C, Blouin R, et al. Adiponectin action from head to toe. *Endocrine* 2010;37:11-32.
557. Lee MH, Klein RL, El-Shewy HM, et al. The adiponectin receptors AdipoR1 and AdipoR2 activate ERK1/2 through a Src/Ras-dependent pathway and stimulate cell growth. *Biochemistry* 2008;47:11682-92.
558. Stefan N, Vozarova B, Funahashi T, et al. Plasma adiponectin concentration is associated with skeletal muscle insulin receptor tyrosine phosphorylation, and low plasma concentration precedes a decrease in whole-body insulin sensitivity in humans. *Diabetes* 2002;51:1884-8.
559. Kern PA, Di Gregorio GB, Lu T, et al. Adiponectin expression from human adipose tissue: relation to obesity, insulin resistance, and tumor necrosis factor-alpha expression. *Diabetes* 2003;52:1779-85.
560. Ahima RS. Adipose tissue as an endocrine organ. *Obesity (Silver Spring)* 2006;14 Suppl 5:242S-9S.
561. Li S, Shin HJ, Ding EL, et al. Adiponectin levels and risk of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *JAMA* 2009;302:179-88.
562. Fumeron F, Aubert R, Siddiq A, et al. Adiponectin gene polymorphisms and adiponectin levels are independently associated with the development of hyperglycemia during a 3-year period: the epidemiologic data on the insulin resistance syndrome prospective study. *Diabetes* 2004;53:1150-7.
563. Mather KJ, Funahashi T, Matsuzawa Y, et al. Adiponectin, change in adiponectin, and progression to diabetes in the Diabetes Prevention Program. *Diabetes* 2008;57:980-6.
564. Pischon T, Girman CJ, Hotamisligil GS, et al. Plasma adiponectin levels and risk of myocardial infarction in men. *JAMA* 2004;291:1730-7.
565. Ouchi N, Kihara S, Arita Y, et al. Novel modulator for endothelial adhesion molecules: adipocyte-derived plasma protein adiponectin. *Circulation* 1999;100:2473-6.

566. Kumada M, Kihara S, Sumitsuji S, et al. Association of Hypoadiponectinemia With Coronary Artery Disease in Men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:85-9.
567. El-Menyar A, Rizk N, Al Nabti AD, et al. Total and high molecular weight adiponectin in patients with coronary artery disease. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)* 2009;10:310-5.
568. Pajvani UB, Du X, Combs TP, et al. Structure-function studies of the adipocyte-secreted hormone Acrp30/adiponectin. Implications for metabolic regulation and bioactivity. *J Biol Chem* 2003;278:9073-85.
569. Jia SH, Li Y, Parodo J, et al. Pre-B cell colony-enhancing factor inhibits neutrophil apoptosis in experimental inflammation and clinical sepsis. *J Clin Invest* 2004;113:1318-27.
570. Kim MK, Lee JH, Kim H, et al. Crystal structure of visfatin/pre-B cell colony-enhancing factor 1/nicotinamide phosphoribosyltransferase, free and in complex with the anti-cancer agent FK-866. *J Mol Biol* 2006;362:66-77.
571. Wang T, Zhang X, Bheda P, et al. Structure of Nampt/PBEF/visfatin, a mammalian NAD⁺ biosynthetic enzyme. *Nat Struct Mol Biol* 2006;13:661-2.
572. Samal B, Sun Y, Stearns G, et al. Cloning and characterization of the cDNA encoding a novel human pre-B-cell colony-enhancing factor. *Mol Cell Biol* 1994;14:1431-7.
573. Curat CA, Wegner V, Sengenès C, et al. Macrophages in human visceral adipose tissue: increased accumulation in obesity and a source of resistin and visfatin. *Diabetologia* 2006;49:744-7.
574. Costford SR, Bajpeyi S, Pasarica M, et al. Skeletal muscle NAMPT is induced by exercise in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 298:E117-26.
575. Song HK, Lee MH, Kim BK, et al. Visfatin: a new player in mesangial cell physiology and diabetic nephropathy. *Am J Physiol Renal Physiol* 2008;295:F1485-94.
576. Brown JE, Onyango DJ, Ramanjaneya M, et al. Visfatin regulates insulin secretion, insulin receptor signalling and mRNA expression of diabetes-related genes in mouse pancreatic beta-cells. *J Mol Endocrinol* 2010;44:171-8.
577. Garten A, Petzold S, Schuster S, et al. Nampt and its potential role in inflammation and type 2 diabetes. *Handb Exp Pharmacol* 2011:147-64.
578. Moschen AR, Kaser A, Enrich B, et al. Visfatin, an adipocytokine with proinflammatory and immunomodulating properties. *J Immunol* 2007;178:1748-58.

579. Moschen AR, Gerner RR, Tilg H. Pre-B Cell Colony Enhancing Factor/NAMPT/Visfatin in Inflammation and Obesity-Related Disorders. *Curr Pharm Des* 2010;
580. Tilg H, Moschen AR. Role of adiponectin and PBEF/visfatin as regulators of inflammation: involvement in obesity-associated diseases. *Clin Sci (Lond)* 2008;114:275-88.
581. Busso N, Karababa M, Nobile M, et al. Pharmacological inhibition of nicotinamide phosphoribosyltransferase/visfatin enzymatic activity identifies a new inflammatory pathway linked to NAD. *PLoS One* 2008;3:e2267.
582. Li Y, Zhang Y, Dorweiler B, et al. Extracellular Nampt promotes macrophage survival via a nonenzymatic interleukin-6/STAT3 signaling mechanism. *J Biol Chem* 2008;283:34833-43.
583. Dahl TB, Yndestad A, Skjelland M, et al. Increased expression of visfatin in macrophages of human unstable carotid and coronary atherosclerosis: possible role in inflammation and plaque destabilization. *Circulation* 2007;115:972-80.
584. Kim SR, Bae YH, Bae SK, et al. Visfatin enhances ICAM-1 and VCAM-1 expression through ROS-dependent NF-kappaB activation in endothelial cells. *Biochim Biophys Acta* 2008;1783:886-95.
585. Lee WJ, Wu CS, Lin H, et al. Visfatin-induced expression of inflammatory mediators in human endothelial cells through the NF-kappaB pathway. *Int J Obes (Lond)* 2009;33:465-72.
586. Adya R, Tan BK, Chen J, et al. Pre-B cell colony enhancing factor (PBEF)/visfatin induces secretion of MCP-1 in human endothelial cells: role in visfatin-induced angiogenesis. *Atherosclerosis* 2009;205:113-9.
587. Adya R, Tan BK, Punn A, et al. Visfatin induces human endothelial VEGF and MMP-2/9 production via MAPK and PI3K/Akt signalling pathways: novel insights into visfatin-induced angiogenesis. *Cardiovasc Res* 2008;Epub ahead of print
588. Luk T, Malam Z, Marshall JC. Pre-B cell colony-enhancing factor (PBEF)/visfatin: a novel mediator of innate immunity. *J Leukoc Biol* 2008; 83:804-16.
589. Oki K, Yamane K, Kamei N, et al. Circulating visfatin level is correlated with inflammation, but not with insulin resistance. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2007;67:796-800.
590. Filippatos TD, Randeve HS, Derdemezis CS, et al. Visfatin/PBEF and atherosclerosis-related diseases. *Curr Vasc Pharmacol* 2010;8:12-28.

591. Filippatos TD, Derdemezis CS, Gazi IF, et al. Increased plasma visfatin levels in subjects with the metabolic syndrome. *Eur J Clin Invest* 2008;38:71-2.
592. Filippatos TD, Derdemezis CS, Kiortsis DN, et al. Increased plasma levels of visfatin/pre-B cell colony-enhancing factor in obese and overweight patients with metabolic syndrome. *J Endocrinol Invest* 2007;30:323-6.
593. Zhong M, Tan HW, Gong HP, et al. Increased serum visfatin in patients with metabolic syndrome and carotid atherosclerosis. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2008; 69:878-84.
594. Cheng KH, Chu CS, Lee KT, et al. Adipocytokines and proinflammatory mediators from abdominal and epicardial adipose tissue in patients with coronary artery disease. *Int J Obes (Lond)* 2008;32:268-74.
595. Liu SW, Qiao SB, Yuan JS, et al. Association of plasma visfatin levels with inflammation, atherosclerosis and acute coronary syndromes (ACS) in humans. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2009;71:202-7.
596. Kadoglou NP, Gkontopoulos A, Kapelouzou A, et al. Serum levels of vaspin and visfatin in patients with coronary artery disease-Kozani study. *Clin Chim Acta* 2011;412:48-52.
597. Pfutzner A, Hanefeld M, Lubben G, et al. Visfatin: A Putative Biomarker for Metabolic Syndrome is not Influenced by Pioglitazone or Simvastatin Treatment in Nondiabetic Patients at Cardiovascular Risk - Results from the PIOSTAT Study. *Horm Metab Res* 2007;39:764-8.
598. Kostapanos MS, Derdemezis CS, Filippatos TD, et al. Effect of rosuvastatin treatment on plasma visfatin levels in patients with primary hyperlipidemia. *Eur J Pharmacol* 2008;578:249-52.
599. Derdemezis C, Filippatos T, Tselepis A, et al. Effects of ezetimibe, either alone or in combination with atorvastatin, on serum visfatin levels. A pilot study. *Exp Op Pharm* 2008;9 :1829-37.
600. Oki K, Koide J, Nakanishi S, et al. Fenofibrate increases high molecular weight adiponectin in subjects with hypertriglyceridemia. *Endocr J* 2007;54:431-5.
601. Van Gaal L, Pi-Sunyer X, Despres JP, et al. Efficacy and safety of rimonabant for improvement of multiple cardiometabolic risk factors in overweight/obese patients: pooled 1-year data from the Rimonabant in Obesity (RIO) program. *Diabetes Care* 2008;31 Suppl 2:S229-40.

602. Van Gaal LF, Scheen AJ, Rissanen AM, et al. Long-term effect of CB1 blockade with rimonabant on cardiometabolic risk factors: two year results from the RIO-Europe Study. *Eur Heart J* 2008;29:1761-71.
603. Scheen AJ. CB1 receptor blockade and its impact on cardiometabolic risk factors: overview of the RIO programme with rimonabant. *J Neuroendocrinol* 2008;20 Suppl 1:139-46.
604. Filippatos TD, Mikhailidis DP. Lipid-lowering drugs acting at the level of the gastrointestinal tract. *Curr Pharm Des* 2009;15:490-516.
605. Kalogirou M TV, Saougos V, Lagos K, Tselepis DA, Elisaf M. Effect of ezetimibe on lipoprotein subfraction concentrations: the role of atorvastatin pretreatment. *Arch Med Sci* 2007;3:344-50.
606. Tsimihodimos V, Miltiados G, Daskalopoulou SS, et al. Fenofibrate: metabolic and pleiotropic effects. *Curr Vasc Pharmacol* 2005;3:87-98.
607. Ose L, Reyes R, Johnson-Levonas AO, et al. Effects of ezetimibe/simvastatin on lipoprotein subfractions in patients with primary hypercholesterolemia: an exploratory analysis of archived samples using two commercially available techniques. *Clin Ther* 2007;29:2419-32.
608. Florentin M, Tselepis AD, Elisaf MS, et al. Effect of non-statin lipid lowering and anti-obesity drugs on LDL subfractions in patients with mixed dyslipidaemia. *Curr Vasc Pharmacol* 2010;8:820-30.
609. Shige H, Nestel P, Sviridov D, et al. Effect of weight reduction on the distribution of apolipoprotein A-I in high-density lipoprotein subfractions in obese non-insulin-dependent diabetic subjects. *Metabolism* 2000;49:1453-9.
610. Hiukka A, Leinonen E, Jauhiainen M, et al. Long-term effects of fenofibrate on VLDL and HDL subspecies in participants with type 2 diabetes mellitus. *Diabetologia* 2007;50:2067-75.
611. Martin SS, Khokhar AA, May HT, et al. HDL cholesterol subclasses, myocardial infarction, and mortality in secondary prevention: the Lipoprotein Investigators Collaborative. *Eur Heart J* 2015;36:22-30.
612. Stampfer MJ, Sacks FM, Salvini S, et al. A prospective study of cholesterol, apolipoproteins, and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med* 1991;325:373-81.

613. Salonen JT, Salonen R, Seppanen K, et al. HDL, HDL2, and HDL3 subfractions, and the risk of acute myocardial infarction. A prospective population study in eastern Finnish men. *Circulation* 1991;84:129-39.
614. Lamarche B, Moorjani S, Cantin B, et al. Associations of HDL2 and HDL3 subfractions with ischemic heart disease in men. Prospective results from the Quebec Cardiovascular Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:1098-105.
615. Tiozzo E, Gardener H, Hudson BI, et al. Subfractions of High-Density Lipoprotein-Cholesterol and Carotid Intima-Media Thickness: The Northern Manhattan Study. *Stroke* 2016;47:1508-13.
616. Rizzo M, Otvos J, Nikolic D, et al. Subfractions and subpopulations of HDL: an update. *Curr Med Chem* 2014;21:2881-91.
617. Nakou ES, Filippatos TD, Kiortsis DN, et al. The effects of ezetimibe and orlistat, alone or in combination, on high-density lipoprotein (HDL) subclasses and HDL-associated enzyme activities in overweight and obese patients with hyperlipidaemia. *Expert Opin Pharmacother* 2008;9:3151-8.
618. 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.
619. Danielsen EM, Hansen GH, Poulsen MD. Apical secretion of apolipoproteins from enterocytes. *J Cell Biol* 1993;120:1347-56.
620. Gazi I, Lourida ES, Filippatos T, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 activity is a marker of small, dense LDL particles in human plasma. *Clin Chem* 2005;51:2264-73.
621. Tzotzas T, Filippatos TD, Triantos A, et al. Effects of a low-calorie diet associated with weight loss on lipoprotein-associated phospholipase A2 (Lp-PLA2) activity in healthy obese women. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2008;18:477-82.
622. Brilakis ES, McConnell JP, Lennon RJ, et al. Association of lipoprotein-associated phospholipase A2 levels with coronary artery disease risk factors, angiographic coronary artery disease, and major adverse events at follow-up. *Eur Heart J* 2005;26:137-44.
623. Iribarren C, Gross MD, Darbinian JA, et al. Association of lipoprotein-associated phospholipase A2 mass and activity with calcified coronary plaque in young adults: the CARDIA study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:216-21.

624. Kullo IJ, Ballantyne CM. Conditional risk factors for atherosclerosis. *Mayo Clin Proc* 2005;80:219-30.
625. Mackness MI, Mackness B, Durrington PN. Paraonase and coronary heart disease. *Atheroscler Suppl* 2002;3:49-55.
626. Mackness MI, Arrol S, Abbott C, et al. Protection of low-density lipoprotein against oxidative modification by high-density lipoprotein associated paraonase. *Atherosclerosis* 1993;104:129-35.
627. Tselepis AD, Goudevenos JA, Tambaki AP, et al. Platelet aggregatory response to platelet activating factor (PAF), ex vivo, and PAF-acetylhydrolase activity in patients with unstable angina: effect of c7E3 Fab (abciximab) therapy. *Cardiovasc Res* 1999;43:183-91.
628. Schwartz MW, Woods SC, Porte D, Jr., et al. Central nervous system control of food intake. *Nature* 2000;404:661-71.
629. Ruige JB, Dekker JM, Blum WF, et al. Leptin and variables of body adiposity, energy balance, and insulin resistance in a population-based study. The Hoorn Study. *Diabetes Care* 1999;22:1097-104.
630. Cota D, Sandoval DA, Olivieri M, et al. Food intake-independent effects of CB1 antagonism on glucose and lipid metabolism. *Obesity (Silver Spring)* 2009;17:1641-5.
631. Krysiak R, Labuzek K, Okopien B. Effect of atorvastatin and fenofibric acid on adipokine release from visceral and subcutaneous adipose tissue of patients with mixed dyslipidemia and normolipidemic subjects. *Pharmacol Rep* 2009;61:1134-45.
632. Buldak L, Dulawa-Buldak A, Labuzek K, et al. Effects of 90-day hypolipidemic treatment on insulin resistance, adipokines and proinflammatory cytokines in patients with mixed hyperlipidemia and impaired fasting glucose. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2012;50:805-13.
633. Damci T, Tatliagac S, Osar Z, et al. Fenofibrate treatment is associated with better glycemic control and lower serum leptin and insulin levels in type 2 diabetic patients with hypertriglyceridemia. *Eur J Intern Med* 2003;14:357-60.
634. Krysiak R, Zmuda W, Marek B, et al. The effect of short-term combined treatment with simvastatin and ezetimibe on circulating adipokine levels in patients with isolated hypercholesterolemia. *Endokrynol Pol* 2014;65:275-80.
635. Krysiak R, Zmuda W, Marek B, et al. Comparison of the effects of short-term hypolipidaemic treatment on plasma adipokine levels in men and women with isolated hypercholesterolaemia. *Endokrynol Pol* 2015;66:114-20.

636. Krysiak R, Zmuda W, Okopien B. The effect of ezetimibe on adipose tissue hormones in patients with isolated hypercholesterolemia. *Pharmacol Rep* 2014;66:442-7.
637. Krysiak R, Zmuda W, Okopien B. The effect of simvastatin-ezetimibe combination therapy on adipose tissue hormones and systemic inflammation in patients with isolated hypercholesterolemia. *Cardiovasc Ther* 2014;32:40-6.
638. Gupta M, Szmitko PE, Tsigoulis M, et al. Effects of ezetimibe add-on to statin therapy on adipokine production in patients with metabolic syndrome and stable vascular disease. *J Cardiovasc Pharmacol* 2010;56:241-5.
639. Gouni-Berthold I, Berthold HK, Chamberland JP, et al. Short-term treatment with ezetimibe, simvastatin or their combination does not alter circulating adiponectin, resistin or leptin levels in healthy men. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2008;68:536-41.
640. Florentin M, Kostapanos MS, Nakou ES, et al. Efficacy and safety of ezetimibe plus orlistat or rimonabant in statin-intolerant nondiabetic overweight/obese patients with dyslipidemia. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 2009;14:274-82.
641. Choi KC, Ryu OH, Lee KW, et al. Effect of PPAR-alpha and -gamma agonist on the expression of visfatin, adiponectin, and TNF-alpha in visceral fat of OLETF rats. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;336:747-53.
642. Hiuge A, Tenenbaum A, Maeda N, et al. Effects of peroxisome proliferator-activated receptor ligands, bezafibrate and fenofibrate, on adiponectin level. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007;27:635-41.
643. Rosenson RS. Effect of fenofibrate on adiponectin and inflammatory biomarkers in metabolic syndrome patients. *Obesity (Silver Spring)* 2009;17:504-9.
644. Koh KK, Han SH, Quon MJ, et al. Beneficial effects of fenofibrate to improve endothelial dysfunction and raise adiponectin levels in patients with primary hypertriglyceridemia. *Diabetes Care* 2005;28:1419-24.
645. Derdemezis C, Filippatos T, Tselepis A, et al. Effects of ezetimibe, either alone or in combination with atorvastatin, on serum visfatin levels: a pilot study. *Expert Opin Pharmacother* 2008;9:1829-37.
646. de Luis DA, Gonzalez Sagrado M, Conde R, et al. Effect of a hypocaloric diet on serum visfatin in obese non-diabetic patients. *Nutrition* 2008;24:517-21.
647. Haider DG, Schindler K, Schaller G, et al. Increased plasma visfatin concentrations in morbidly obese subjects are reduced after gastric banding. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:1578-81.

648. Manco M, Fernandez-Real JM, Equitani F, et al. Effect of massive weight loss on inflammatory adipocytokines and the innate immune system in morbidly obese women. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:483-90.
649. Krzyzanowska K, Mittermayer F, Krugluger W, et al. Increase in visfatin after weight loss induced by gastroplastic surgery. *Obesity (Silver Spring)* 2006;14:1886-9.
650. Filippatos TD, Randeve HS, Derdemezis CS, et al. VISFATIN/PBEF and Atherosclerosis-Related Diseases. *Curr Vasc Pharmacol* 2010; 8:12-28.