

ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ  
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ



026000199838





331

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ  
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΤΟΜΕΑΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ  
ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ  
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΕΛΙΣΑΦ ΜΩΥΣΗΣ, ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ

**Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΦΑΡΜΑΚΩΝ ΣΤΗΝ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΡΑΦ-  
ΑΚΕΤΥΛ-ΥΔΡΟΛΑΣΗΣ (ΡΑΦ-ΑΗ) ΣΤΟ ΠΛΑΣΜΑ ΚΑΙ ΣΤΙΣ  
ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ**

**ΕΥΑΓΓΕΛΟΣ Χ. ΡΙΖΟΣ**  
ΕΙΔΙΚΟΣ ΠΑΘΟΛΟΓΟΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2005



Αρ. ειλ.: 781.....2006

11

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ  
ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ

ΕΝΔΙΑΜΕΣΙΑΣ ΔΙΕΥΘΥΝΣΗΣ  
ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗΣ

ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ "ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗ"

ΠΡΟΤΥΠΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΧΟΛΙΑΣΤΙΚΗΣ ΕΡΕΥΝΑΣ  
ΣΤΗΝ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΤΗΣ ΠΡΩΤΗΣ ΒΑΘΜΙΑΣ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗΣ  
ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ "ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗ"

ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ  
"ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗ"

ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ "ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗ"



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ  
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**ΤΟΜΕΑΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ  
ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ  
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΕΛΙΣΑΦ ΜΩΥΣΗΣ, ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ**

**Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΦΑΡΜΑΚΩΝ ΣΤΗΝ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΡΑΦ-  
ΑΚΕΤΥΛ-ΥΔΡΟΛΑΣΗΣ (ΡΑΦ-ΑΗ) ΣΤΟ ΠΛΑΣΜΑ ΚΑΙ ΣΤΙΣ  
ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ**

**ΕΥΑΓΓΕΛΟΣ Χ. ΡΙΖΟΣ  
ΕΙΔΙΚΟΣ ΠΑΘΟΛΟΓΟΣ**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2005**



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



Αίτηση εκπόνησης διδακτορικής διατριβής: 12-02-1999

Ορισμός τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής: 380α/18-05-1999

**Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής**

Επιβλέπων:

Ελισάφ Μωυσής, Αναπληρωτής Καθηγητής Παθολογίας.

Μέλη:

Τσατσούλης Αγαθοκλής, Αναπληρωτής Καθηγητής Παθολογίας-Ενδοκρινολογίας.

Γουδέβενος Ιωάννης, Επίκουρος Καθηγητής Καρδιολογίας.

Ορισμός θέματος: 02-11-1999

Κατάθεση διδακτορικής διατριβής: 26-10-2005

Πρόεδρος Ιατρικής Σχολής: Τσιάνος Επαμεινώνδας, Καθηγητής Παθολογίας.

**Μέλη Επταμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής**

Ελισάφ Μωυσής

Καθηγητής Παθολογίας.

Τσατσούλης Αγαθοκλής

Καθηγητής Παθολογίας-Ενδοκρινολογίας.

Γουδέβενος Ιωάννης

Καθηγητής Καρδιολογίας.

Τσιάνος Επαμεινώνδας

Καθηγητής Παθολογίας.

Τσελέπης Αλέξανδρος

Αναπληρωτής Καθηγητής Τμήματος Χημείας.

Μπαϊρακτάρη Ελένη

Επίκουρη Καθηγήτρια Βιολογικής Χημείας.

Τσιάρα Σταυρούλα

Επίκουρη Καθηγήτρια Παθολογίας.

**ΒΑΘΜΟΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ: ΑΡΙΣΤΑ**



## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή Μωυσή Ελισάφ για τη συνεχή βοήθεια και υποστήριξη στην ολοκλήρωση αυτής της διατριβής. Ο τρόπος δουλειάς του, η μεθοδικότητα, οι γνώσεις και οι πολλαπλές ιατρικές και διοικητικές του ικανότητες αποτελούν πρότυπο για κάθε νέο επιστήμονα.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τον καθηγητή Αλέξανδρο Τσελέπη για την πολύτιμη βοήθειά του τόσο στον εργαστηριακό τομέα όσο και στην αξιολόγηση και δημοσίευση των αποτελεσμάτων.

Αφιερώνω το παρόν στη γυναίκα μου Εύη και στην οικογένειά μου.



# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>ΕΙΣΑΓΩΓΗ</b>	<b>1</b>
• <b>Μεταβολισμός των λιποπρωτεϊνών</b>	<b>1</b>
• <b>PAFAH</b>	<b>5</b>
• <b>HDL-PAF-AH</b>	<b>41</b>
• <b>PON1</b>	<b>45</b>
• <b>Μεταβολικό σύνδρομο</b>	<b>55</b>
• <b>Απολιποπρωτεΐνη E</b>	<b>67</b>
<b>ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ</b>	<b>71</b>
<b>Υλικό</b>	<b>71</b>
<b>Μέτρηση της ενζυμικής ενεργότητας (PAF-AH του πλάσματος, HDL-PAF-AH, PON1) και μέτρηση των μεταβολικών παραμέτρων</b>	<b>78</b>
• <b>Βιοχημικές παράμετροι</b>	<b>78</b>
• <b>Προσδιορισμός της ενεργότητας της PAF-AH</b>	<b>79</b>
• <b>Προσδιορισμός της ενεργότητας της PON1</b>	<b>83</b>
<b>ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ</b>	<b>87</b>
<b>ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ</b>	<b>91</b>
• <b>Μεταβολικό σύνδρομο</b>	<b>91</b>
• <b>Υπερτασικοί ασθενείς και PAF-AH</b>	<b>102</b>
• <b>Σύγκριση ατενολόλης με νεμπτιβολόλη</b>	<b>104</b>
• <b>Πραβαστατίνη και β-αποκλειστές</b>	<b>107</b>





• Δυσλιπιδαιμικοί ασθενείς και PAF-AH	111
<b>ΣΥΖΗΤΗΣΗ</b>	<b>115</b>
• Μεταβολικό σύνδρομο	115
• Υπέρταση και PAF-AH	124
• Σύγκριση ατενολόλης με νεμπιβολόλη	126
• Επίδραση της πραβαστατίνης στους υπερτασικούς ασθενείς που έλαβαν β-αποκλειστές	130
• Δυσλιπιδαιμία και PAF-AH	132
<b>ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ</b>	<b>135</b>
<b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ</b>	<b>137</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>141</b>
<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</b>	<b>143</b>
<b>ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ</b>	<b>191</b>

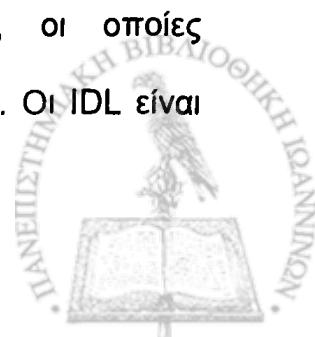


# ΕΙΣΑΓΩΓΗ

## ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΛΙΠΟΠΡΩΤΕΪΝΩΝ

Το διαιτητικό λίπος μετά την απορρόφησή του από το γαστρεντερικό σωλήνα, ενσωματώνεται στα πλούσια σε τριγλυκερίδια χυλομικρά [1], τα οποία στην κυκλοφορία προσλαμβάνουν την απολιποπρωτεΐνη C-II (Apo C-II) από τις υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (HDL) [2]. Τα χυλομικρά καταβολίζονται με τη βοήθεια της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης (LPL), η οποία εντοπίζεται στα τριχοειδή των σκελετικών μυών και του λιπώδους ιστού [3]. Το ένζυμο αυτό υδρολύει τα τριγλυκερίδια των χυλομικρών με αποτέλεσμα την απελευθέρωση λιπαρών οξέων που αποθηκεύονται στο λιπώδη ιστό ή χρησιμοποιούνται για την κάλυψη των ενεργειακών αναγκών. Τα κατάλοιπα των χυλομικρών που προκύπτουν προσλαμβάνονται από τα παρεγχυματικά κύτταρα του ήπατος [4]. Τα λιπίδια από τα κατάλοιπα των χυλομικρών μετά την είσοδό τους στα ηπατοκύτταρα αποθηκεύονται ή καταβολίζονται ή επανεκκρίνονται από τα ηπατοκύτταρα με τη μορφή των πλούσιων σε τριγλυκερίδια λιποπρωτεϊνών, δηλαδή των πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών (VLDL) [5].

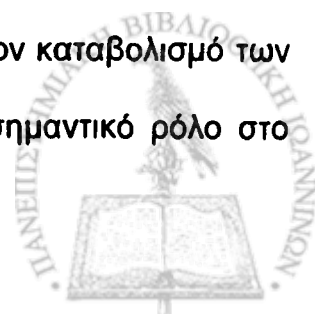
Η ηπατική παραγωγή λιποπρωτεϊνών εξαρτάται από την παροχή γλυκόζης και λιπαρών οξέων στα ηπατοκύτταρα και επηρεάζεται σημαντικά από ορμονικούς παράγοντες και κυρίως από την ινσουλίνη [5]. Όπως και τα χυλομικρά, οι VLDL καταβολίζονται στην κυκλοφορία από τη λιποπρωτεϊνική λιπάση. Το ένζυμο αυτό ενεργοποιείται από την Apo C-II, ενώ η αποπρωτεΐνη C-III (Apo C-III) αναστέλλει τη δραστηριότητά του [6]. Με την επίδραση της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης οι VLDL μετατρέπονται στις ενδιάμεσης πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (IDL), οι οποίες αναφέρονται στη βιβλιογραφία και ως κατάλοιπα (remnants) των VLDL. Οι IDL είναι



σχετικά πλούσιες σε χοληστερόλη και ένα μέρος τους προσλαμβάνεται άμεσα από τα ηπατοκύτταρα διαμέσου υποδοχέων που συνδέονται με την Apo E [κατά πάσα πιθανότητα πρόκειται για τους ίδιους υποδοχείς που αναγνωρίζουν την αποπρωτεΐνη B (Apo B) των χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών (LDL)]. Οι υπόλοιπες IDL διαμέσου της ηπατικής λιπάσης [7] μετατρέπονται σε LDL [8]. Οι LDL είναι πλούσιες σε χοληστερόλη και πτωχές σε τριγλυκερίδια, έχουν ως κύρια πρωτεΐνη την Apo B 100 και χρησιμεύουν για τη μεταφορά της χοληστερόλης στο πλάσμα.

Οι LDL μεταβολίζονται διαμέσου των LDL υποδοχέων που υπάρχουν κυρίως στα ηπατοκύτταρα και αναγνωρίζουν την απολιποπρωτεΐνη B 100, δηλαδή την πρωτεΐνη που υπάρχει στην επιφάνεια των LDL [9]. Ο αριθμός και η δραστηριότητα των LDL υποδοχέων είναι καθοριστικής σημασίας για τη ρύθμιση-της συγκέντρωσης της LDL στο πλάσμα. Έτσι, η μείωση της δραστηριότητας των LDL υποδοχέων έχει ως αποτέλεσμα όχι μόνο τη μείωση του καταβολισμού των LDL, αλλά και την αύξηση της σύνθεσής τους από τα κατάλοιπα των VLDL (IDL), αφού μικρότερο κλάσμα αυτών των σωματιδίων καταβολίζεται διαμέσου των LDL υποδοχέων. Ο αριθμός και η δραστηριότητα των LDL υποδοχέων εξαρτώνται από τα επίπεδα της ελεύθερης χοληστερόλης στα ηπατοκύτταρα [10]. Πράγματι, η μείωση της ενδοκυττάριας συγκέντρωσης χοληστερόλης που οφείλεται στη χορήγηση υπολιπιδαιμικών φαρμάκων (είτε στατινών που μειώνουν την ενδοκυττάρια σύνθεση χοληστερόλης είτε ρητινών δέσμευσης χολικών οξέων που διακόπτουν τον εντερο-ηπατικό κύκλο των χολικών οξέων και αυξάνουν τη μετατροπή της χοληστερόλης σε χολικά οξέα), 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 τριγλυκερίδια λιποπρωτεϊνών και διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στο



μηχανισμό της ανάστροφης μεταφοράς χοληστερόλης [11]. Σύμφωνα με αυτή τη θεώρηση, οι HDL δεσμεύουν την πλεονάζουσα χοληστερόλη των κυττάρων ή και των αθηρωματικών πλακών. Η μετακίνηση της χοληστερόλης από τα κύτταρα στις αρχέγονες HDL γίνεται διαμέσου των ABCA1 μεταφορέων που εκφράζονται στην επιφάνεια των κυττάρων. Η ελεύθερη χοληστερόλη στη συνέχεια εστεροποιείται με την επίδραση του ενζύμου ακετυλτρανσφεράση της χοληστερόλης (LCAT) [12]. Η εστεροποιημένη χοληστερόλη μεταφέρεται διαμέσου του ενζύμου που μεταφέρει εστέρες χοληστερόλης (CETP) σε άλλες πλούσιες σε τριγλυκερίδια λιποπρωτεΐνες και διαμέσου αυτών, είτε στα ηπατοκύτταρα είτε στα περιφερικά κύτταρα για τη στεροειδογένεση [13]. Πρόσφατα δεδομένα έδειξαν ότι οι υποδοχείς SR-B1 διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στην άμεση μεταφορά εστέρων χοληστερόλης από τις HDL στα ηπατοκύτταρα [14].

#### Ταξινόμηση των πρωτοπαθών δυσλιπιδαιμιών:

Οι δυσλιπιδαιμίες ταξινομούνται σύμφωνα με την ταξινόμηση του Fredrickson, η οποία βασίζεται στη διαφορετική ηλεκτροφορητική κινητικότητα των λιποπρωτεϊνών του πλάσματος (Πίνακας 1). Σήμερα η χρήση αυτής της ταξινόμησης τείνει να εγκαταλειφθεί για τους εξής λόγους: 1) δεν λαμβάνει υπόψη τις λιποπρωτεΐνες υψηλής πυκνότητας (HDL), 2) δεν αποτελεί διαγνωστική ταξινόμηση και 3) δεν προσφέρει πληροφορίες σχετικά με την πρόγνωση των ασθενών. Για παράδειγμα, η υπερλιποπρωτεϊναιμία τύπου IIA περιλαμβάνει τόσο την οικογενή υπερχοληστερολαιμία, μια νόσο που αν αφεθεί χωρίς θεραπεία οδηγεί σε πρώιμη στεφανιαία νόσο και θάνατο, όσο και την ήπια πολυγονική υπερχοληστερολαιμία, η οποία μπορεί να είναι τελείως ακίνδυνη όταν απουσιάζουν άλλοι παράγοντες κινδύνου και συχνά συνδυάζεται με υψηλά επίπεδα HDL χοληστερόλης.



Πίνακας 1: Ταξινόμηση των δυσλιπιδαιμιών κατά Fredrickson.

ΤΥΠΟΣ	ΑΥΞΗΜΕΝΕΣ ΛΙΠΟΠΡΩΤΕΪΝΕΣ	ΑΥΞΗΜΕΝΑ ΛΙΠΙΔΙΑ
I	Χυλομικρά	Τριγλυκερίδια και χοληστερόλη
IIa	LDL	Χοληστερόλη
IIβ	VLDL και LDL	Χοληστερόλη και τριγλυκερίδια
III	βVLDL	Τριγλυκερίδια και χοληστερόλη
IV	VLDL	Τριγλυκερίδια
V	Χυλομικρά και VLDL	Τριγλυκερίδια και χοληστερόλη



## PAF-AH

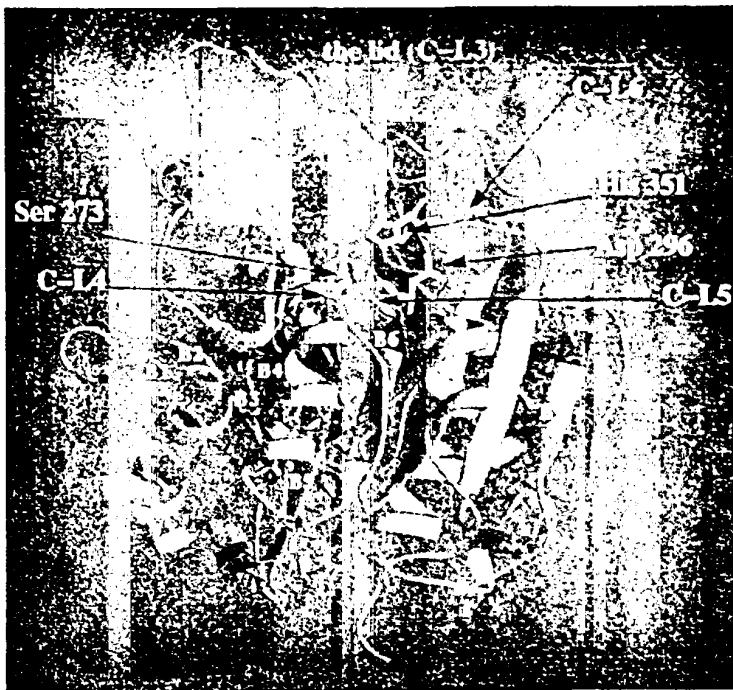
### PAF και φλεγμονή:

Οι φλεγμονώδεις διεργασίες φαίνεται ότι διαδραματίζουν βασικό ρόλο στην εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης [15-18]. Κατά τη φάση του οξειδωτικού stress τα μονοκύτταρα μετατρέπονται σε μακροφάγα στον έσω χιτώνα του αγγειακού τοιχώματος και εκκρίνουν μεταλλοπρωτεάσες, ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, φωσφολιπάσες, κυτταροκίνες και ιστικό παράγοντα [19,20]. Όλοι αυτοί οι παράγοντες και ιδιαίτερα οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, η λιποξυγενάση και οι φωσφολιπάσες επάγουν την οξείδωση των LDL σωματιδίων. Τα οξειδωμένα LDL σωματίδια προσλαμβάνονται από τους υποδοχείς-καθαριστές (scavenger receptors) των μακροφάγων με αποτέλεσμα το μετασχηματισμό των μακροφάγων σε αφρώδη κύτταρα που αποτελούν τα χαρακτηριστικά κύτταρα της αθηρωματικής πλάκας [17-19, 21-24]. Μεταξύ των λιπιδίων που έχουν ανιχνευθεί στις αθηρωματικές πλάκες είναι ο παράγοντας ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (PAF), τα οξειδωμένα φωσφολιπίδια, οι οξειδωμένοι εστέρες της χοληστερόλης, τα οξειδωμένα ελεύθερα λιπαρά οξέα, η λυσοφωσφατιδυλοχολίνη, οι οξυστερόλες και οι ισοπροστάνες [24-27]. Όλα αυτά τα λιπίδια προέρχονται είτε από τα ενεργοποιημένα μακροφάγα, είτε από τμήματα των λιπιδίων των LDL ή των κυτταρικών μεμβρανών, είτε είναι προϊόντα αποδόμησης των φωσφολιπιδίων μετά τη δράση των φωσφολιπασών [24-27].

Ειδικότερα ο PAF φαίνεται ότι διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην αθηρωματική διαδικασία, αφού κατά τη φλεγμονώδη φάση της αυξάνει την προσκόλληση των λευκοκυττάρων στο ενδοθήλιο διαμέσου της έκφρασης διαφόρων προσκολλητικών μορίων, με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση των λευκοκυττάρων [15,16,28]. Η ποσότητα του PAF ρυθμίζεται τόσο από το ρυθμό παραγωγής του από τα κύτταρα του



ενδοθηλίου, όσο και από το ρυθμό αποδόμησής του από διάφορα ένζυμα [15,16,28]. Παράλληλα, δράση PAF εμφανίζουν και άλλα φωσφολιπίδια που μιμούνται τη βιοδραστικότητα του PAF και προέρχονται από την οξείδωση των κυτταρικών μεμβρανών (στη θέση sn-2 του αραχιδονικού τμήματος της μεμβράνης) και της φωσφατιδυλοχολίνης του πλάσματος. Τα φωσφολιπίδια αυτά ενεργοποιούν τα κύτταρα, όπως ο PAF, (διαμέσου του υποδοχέα του PAF) και καταβολίζονται από διάφορες φωσφολιπάσες [15,16,28]. Ανάμεσα σε αυτά τα ένζυμα κεντρικό ρόλο διαδραματίζει η σχετιζόμενη με τις λιποπρωτεΐνες φωσφολιπάση A<sub>2</sub>, δηλαδή η PAF ακετυλ-υδρολάση (PAF-AH) (Εικόνα 1).



Εικόνα 1: Προτεινόμενη τρισδιάστατη δομή της PAF-AH.

**Λειτουργία της PAF-AH (εξειδίκευση υποστρώματος):**

Η PAF-AH είναι μία πρωτεΐνη με μοριακό βάρος 45.4 kDa (441 αμινοξέα) και ανήκει σε μία ευρύτερη οικογένεια ενζύμων (PAF-AH Ia, Ib, II και η ερυθροκυτταρική). Βασικό χαρακτηριστικό της PAF-AH του πλάσματος που την διαχωρίζει από τα υπόλοιπα μέλη της οικογένειας των φωσφολιπασών  $A_2$  και την καθιστά μοναδική είναι η εξειδίκευση της σε διάφορα υποστρώματα (substrate specificity) [15,16,28].

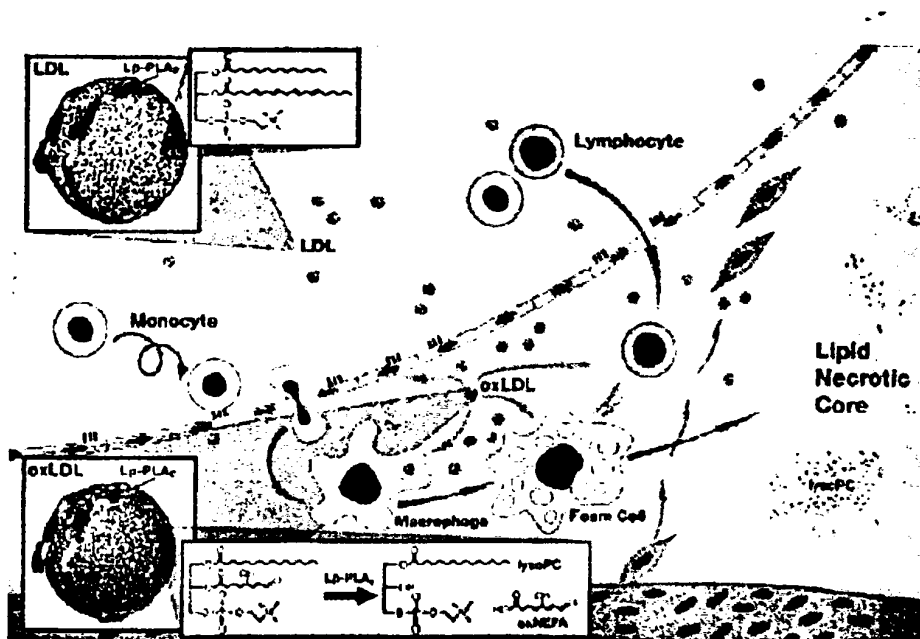
Πράγματι, οι πρώτες μελέτες έδειξαν ότι το ένζυμο, σε αντίθεση με τις άλλες φωσφολιπάσες  $A_2$ , εμφανίζει σημαντική εξειδίκευση για τα φωσφολιπίδια τα οποία περιέχουν λιπαρά οξέα βραχείας αλυσίδας στη θέση 2 του σκελετού της γλυκερόλης (Εικόνα 2). Έτσι, το καλύτερο υπόστρωμα για το ένζυμο είναι ο PAF, ο οποίος περιέχει ακετυλομάδα στη θέση 2 (2 άτομα άνθρακα), ενώ η διαδοχική αύξηση του αριθμού των ατόμων άνθρακα στο λιπαρό οξύ της θέσης 2 προκαλεί προοδευτική μείωση της ταχύτητας υδρόλυσης του υποστρώματος, με αποτέλεσμα να γίνεται πρακτικά μηδενική για λιπαρά οξέα με περισσότερα από 6 άτομα άνθρακα [29]. Ωστόσο, μεταγενέστερες μελέτες έδειξαν ότι η προσθήκη μιας πολικής ομάδας (καρβοξυλικής ή αλδεϋδικής) στο  $\omega$ -άκρο των λιπαρών οξέων με περισσότερα από 6 άτομα άνθρακα που βρίσκονται εστεροποιημένα στη θέση 2 οδηγεί στο σχηματισμό φωσφολιπιδίων, τα οποία αποτελούν κατάλληλο υπόστρωμα για την PAF-AH [30]. Τα φωσφολιπίδια αυτά, τα οποία περιέχουν πολικές ομάδες στη θέση 2, διαθέτουν αξιοσημείωτη βιολογική δραστηριότητα και σχηματίζονται *in vivo* κατά τη διάρκεια της οξειδωσης των φωσφολιπιδίων των λιποπρωτεϊνών και των κυτταρικών μεμβρανών που περιέχουν πολυακόρεστα λιπαρά οξέα στη θέση 2 [30].





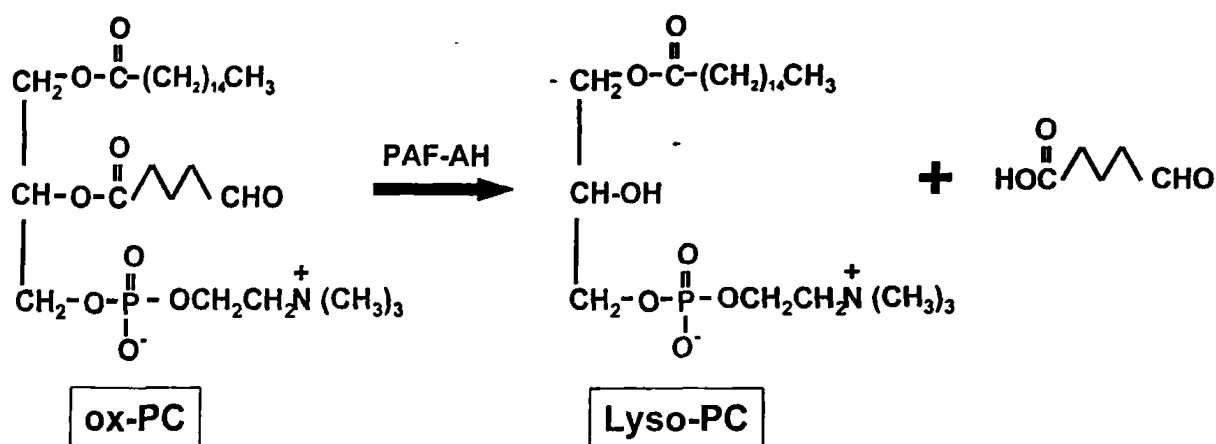
### Συνολικά λοιπόν η PAF-AH (Εικόνες 2,3):

- καταλύει την υδρόλυση του ακετυλ-εστέρα στη θέση sn-2 του φωσφολιπιδίου PAF, με αποτέλεσμα να μετατρέπει τον PAF στον ανενεργό μεταβολίτη lysoPAF,
- υδρολύει τα οξειδωμένα φωσφολιπίδια (που κυρίως παράγονται από την οξείδωση της LDL) με αποτέλεσμα τη δημιουργία λυσοφωσφατιδυλοχολίνης και μη εστεροποιημένων λιπαρών οξέων.



**Εικόνα 2:** σχηματική απεικόνιση της προτεινόμενης αθηρογόνου δράσης της PAF-AH. Από την οξείδωση της LDL δημιουργούνται φωσφολιπίδια που υδρολύονται από την PAF-AH, με αποτέλεσμα το σχηματισμό λυσοφωσφατιδυλοχολίνης (lysoPC) και οξειδωμένων μη εστεροποιημένων λιπαρών οξέων (NEFA). Τόσο η lysoPC όσο και τα NEFA ευοδώνουν τις φλεγμονώδεις διεργασίες με αποτέλεσμα τη δημιουργία αθηρωματικών βλαβών.

Το αποτέλεσμα όλων αυτών των αντιδράσεων είναι η δημιουργία οξειδωμένων λιπαρών οξέων [15,16,28]. Έτσι, έχει διατυπωθεί η άποψη ότι η PAF-AH έχει δράση «καθαριστή» (scavenger) των φωσφολιπιδίων, αφού η αυστηρή εξειδίκευση του υποστρώματος της PAF-AH της δίνει τη δυνατότητα να κυκλοφορεί στο πλάσμα σε ενεργό μορφή και να συμμετέχει στο μεταβολισμό του PAF και των οξειδωμένων φωσφολιπιδίων που συσσωρεύονται στον οργανισμό με βλαβερές συνέπειες [28], χωρίς ωστόσο να διασπά τα αέραια φωσφολιπίδια των λιποπρωτεϊνών και των κυτταρικών μεμβρανών που δεν έχουν υποστεί οξειδωτική τροποποίηση [30]. Τέλος, για να δράσει η PAF-AH δεν χρειάζεται την παρουσία ασβεστίου, αντίθετα από τις άλλες φωσφολιπάσες  $A_2$  [15,16,28].



Εικόνα 3. Η βασική αντίδραση που καταλύεται από την PAF-AH.

**Κυτταρική πηγή προέλευσης της PAF-AH:**

Η PAF-AH εκκρίνεται κυρίως από τα μονοκύτταρα-μακροφάγα, τα κύτταρα του Kupfer στο ήπαρ, τα μαστοκύτταρα και τα αιμοπετάλια [15,16,28]. Η διαπίστωση αυτή έγινε με τη χρήση τεχνικών μοριακής βιολογίας (Northern blot ανάλυση με ραδιοσημασμένο cDNA). Πράγματι, αυξημένη ποσότητα mRNA της PAF-AH του πλάσματος βρέθηκε σε ιστούς που χαρακτηρίζονται από αυξημένη συγκέντρωση ιστικών μακροφάγων (όπως ο θύμος αδένας, οι αμυγδαλές, ο πλακούντας και ο σπλήνας), γεγονός που υπογραμμίζει τη σημασία του συστήματος μονοκυττάρων-μακροφάγων στην παραγωγή του ενζύμου [31]. Οι παρατηρήσεις αυτές επιβεβαιώθηκαν πρόσφατα από μια μελέτη που έγινε σε Ιαπωνικό πληθυσμό και βασίσθηκε στην ύπαρξη μιας μετάλλαξης η οποία οδηγεί σε πλήρη απώλεια της δραστικότητας του ενζύμου (Val279Phe). Συγκεκριμένα οι Asano και συνεργάτες έδειξαν ότι σε ασθενείς που έχουν υποβληθεί σε μεταμόσχευση του μυελού των οστών η ενεργότητα του ενζύμου στο πλάσμα εξαρτάται από το γονότυπο του δότη και όχι του δέκτη [32]. Έτσι, οι ασθενείς οι οποίοι ήταν ομόζυγοι για τον άγριο (wild) τύπο του ενζύμου (έλλειψη της μετάλλαξης, φυσιολογική ενζυμική δραστικότητα) και έλαβαν μόσχευμα από δότες ετερόζυγους για τη μετάλλαξη Val279Phe παρουσίασαν κατά 50% μικρότερη ενεργότητα του ενζύμου σε σύγκριση με τον υγιή πληθυσμό, ενώ ένας ασθενής που έλαβε μόσχευμα από δότη ομόζυγο για τη μετάλλαξη Val279Phe παρουσίασε μη ανιχνεύσιμα επίπεδα ενεργότητας της PAF-AH του πλάσματος [32]. Κατά συνέπεια, από τα παραπάνω δεδομένα προκύπτει ότι το ένζυμο του πλάσματος προέρχεται από κύτταρα του αιμοποιητικού συστήματος και μάλιστα από τα κύτταρα της μυελοειδούς σειράς.

Τέλος, αναφορικά με την παραγωγή του ενζύμου από τα ηπατοκύτταρα πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι τα κύτταρα αυτά παράγουν σημαντικές ποσότητες PAF-AH μετά



από κατάλληλη διέγερση, αν και το μεγαλύτερο μέρος της ενζυμικής ενεργότητας εκκρίνεται στη χολή και όχι στο πλάσμα [33].

Αντίθετα, τα κύτταρα Kupffer του ήπατος (τα οποία ανήκουν στο σύστημα μονοκυττάρων-μακροφάγων) μετά από διέγερση με ενδοτοξίνη εκκρίνουν το μεγαλύτερο ποσοστό του παραγόμενου ενζύμου στο πλάσμα [33].



**Παράγοντες που ρυθμίζουν την έκκριση της PAF-AH:**

Εξαιτίας του γεγονότος ότι τα κύτταρα του αιμοποιητικού συστήματος δεν εκκρίνουν λιποπρωτεΐνες, η έκκριση της PAF-AH γίνεται κατά τρόπο ανεξάρτητο από την έκκριση των λιποπρωτεϊνών. Στους παράγοντες που ρυθμίζουν την έκκριση της PAF-AH συμπεριλαμβάνονται η διαφοροποίηση των κυττάρων που εκκρίνουν το ένζυμο, ορμονικοί παράγοντες, αλλά και διάφοροι φλεγμονώδεις μεσολαβητές [34-39].

- Διαφοροποίηση μονοκυττάρων σε μακροφάγα: PAF-AH μπορούν να εκκρίνουν τα μονοκύτταρα κυρίως κατά τη διαφοροποίησή τους σε μακροφάγα, γεγονός που επιβεβαιώνεται από πειραματικά δεδομένα που έδειξαν έκκριση της PAF-AH από τα μακροφάγα της αθηρωματικής πλάκας [40].

Επίσης, έχει βρεθεί ότι ο προαγωγός του γονιδίου της PAF-AH περιέχει ειδικές θέσεις σύνδεσης για τους μεταγραφικούς παράγοντες Sp1 και Sp3 [41]. Τα επίπεδα αυτών των παραγόντων αυξάνονται κατά τη διαφοροποίηση των μονοκυττάρων σε μακροφάγα και έτσι αυξάνεται η δραστηριότητα του προαγωγού της PAF-AH με αποτέλεσμα την παραγωγή και έκκριση του ενζύμου [41].

- Ορμόνες: από τους ορμονικούς παράγοντες τόσο η προγεστερόνη όσο και η δεξαμεθαζόνη [42] αυξάνουν την παραγωγή του ενζύμου από τα μακροφάγα του φθαρού, ενώ αντίθετα τα οιστρογόνα και η βιταμίνη D μειώνουν την παραγωγή του [42-44]. Μάλιστα έχει διατυπωθεί η άποψη ότι οι ορμονικές αυτές επιδράσεις διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην κύηση και την έναρξη του τοκετού δεδομένου ότι μια από τις φυσιολογικές δράσεις του PAF είναι η αύξηση της συσπαστικότητας του μυομητρίου. Έτσι, ενώ σε όλη τη διάρκεια της κύησης τα επίπεδα της PAF-AH είναι αυξημένα, η απότομη μείωση της ενεργότητας του ενζύμου πριν τον τοκετό οδηγεί σε αύξηση των επιπέδων του PAF, σύσπαση του μυομητρίου και έναρξη του τοκετού [36,45].



• Φλεγμονώδεις μεσολαβητές: πολλοί φλεγμονώδεις μεσολαβητές που κατά κύριο λόγο εκκρίνονται από τα μακροφάγα, όπως οι ιντερλευκίνες (IL) 1, 6 και 8, η ιντερφερόνη (IFN)  $\gamma$  και ο ιστικός παράγοντας νέκρωσης των όγκων (TNF)  $\alpha$  αναστέλλουν την έκκριση της PAF-AH, ενώ αντίθετα ο PAF είναι ο μόνος διαβιβαστής της φλεγμονής που τη διεγείρει [34-39]. Θεωρητικά θα περιμέναμε η PAF-AH να είναι ελαττωμένη στα αυτοάνοσα νοσήματα εξαιτίας της αυξημένης συγκέντρωσης διαφόρων κυτταροκινών. Όμως τα αποτελέσματα των μελετών είναι αντικρουόμενα, αφού ο ανασταλτικός ρόλος των διαβιβαστών της φλεγμονής στην παραγωγή του ενζύμου του πλάσματος επιβεβαιώθηκε μόνο *in vitro* και όχι *in vivo*. Έτσι, τόσο η χορήγηση ενδοτοξίνης Gram αρνητικών μικροβίων όσο και η χορήγηση IL-1 ή TNF- $\alpha$  σε διάφορα είδη τρωκτικών είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της έκφρασης του γονιδίου της PAF-AH και κατά συνέπεια την αύξηση της ενεργότητας του ενζύμου στο πλάσμα [33,35,46,47]. Μέχρι σήμερα έχουν προταθεί διάφορες θεωρίες που επιχείρησαν να εξηγήσουν τα αντικρουόμενα αποτελέσματα μεταξύ των *in vivo* και *in vitro* μελετών που εξέτασαν την επίδραση των παραγόντων της φλεγμονής στην παραγωγή της PAF-AH. Η επικρατέστερη από αυτές βασίζεται στην παραδοχή ότι η *in vivo* χορήγηση των αγωνιστών της φλεγμονής είναι δυνατό να ενεργοποιήσει διάφορους μεταβολικούς δρόμους, οι οποίοι δεν μπορούν να αναπαραχθούν σε συνθήκες κυτταροκαλλιέργειας. Έτσι, η αρχική αναστολή της παραγωγής της PAF-AH του πλάσματος από τη χορήγηση ενδοτοξίνης (η οποία έχει διαπιστωθεί σε καλλιέργειες μακροφάγων) μπορεί στο πειραματόζωο να συνοδεύεται από αύξηση των ιστικών συγκεντρώσεων του PAF, ο οποίος στη συνέχεια διεγείρει την παραγωγή του ενζύμου [28]. Η άποψη αυτή υποστηρίζεται έμμεσα από την παρατήρηση ότι η αύξηση της ενεργότητας της PAF-AH του πλάσματος στα τρωκτικά μετά την *in vivo* χορήγηση ενδοτοξίνης μπορεί να ανασταλεί εν μέρει με τη σύγχρονη χορήγηση ανταγωνιστών



του υποδοχέα του PAF [46]. Επιπρόσθετα, στη διαμόρφωση της τελικής ενεργότητας της PAF-AH του πλάσματος in vivo μπορεί να συμβάλλουν και οι επαγόμενες από τις κυτταροκίνες ποιοτικές και ποσοτικές μεταβολές των λιποπρωτεϊνών [48], οι οποίες όπως είναι γνωστό αποτελούν τους κύριους φορείς του ενζύμου στο πλάσμα.

- Ενεργότητα της PAF-AH σε νοσήματα που χαρακτηρίζονται από φλεγμονώδη αντίδραση: το αποτέλεσμα της έκκρισης των μεσολαβητών της φλεγμονής είναι η μεταβολή της ενεργότητας της PAF-AH σε διάφορες καταστάσεις που χαρακτηρίζονται από γενικευμένη φλεγμονώδη αντίδραση. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελούν τα αυτοάνοσα νοσήματα, όπως η νόσος Crohn, ο συστηματικός ερυθηματώδης λύκος, η ρευματοειδής αρθρίτιδα και το αλλεργικό άσθμα. Επίσης, η ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος συσχετίζεται αρνητικά με τα επίπεδα της CRP του ορού [39,47,49-53].

Ελαττωμένη ενεργότητα της PAF-AH έχει βρεθεί στη σηπτική καταπληξία, στη πολυοργανική ανεπάρκεια μετά από τραυματισμό και στο οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου [51,54,55], ενώ αυξημένη ενεργότητα του ενζύμου έχει βρεθεί στο σακχαρώδη διαβήτη, στη σταθερή στηθάγχη, στο οξύ στεφανιαίο επεισόδιο, σε ασθενείς μετά από επεμβάσεις επαναγγείωσης των στεφανιαίων, στο ισχαιμικό αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, στη χρόνια χολόσταση, στην ιδιοπαθή υπέρταση και σε καπνιστές [56-66]. Βέβαια, είναι δύσκολο να διευκρινισθεί αν η διαταραχή της ενεργότητας της PAF-AH είναι το αίτιο που προκάλεσε την εκδήλωση των νοσημάτων ή είναι το αποτέλεσμα αυτών των νοσημάτων [15,16,28].

- Μεταβολισμός των λιποπρωτεϊνών και ενεργότητα της PAF-AH:

Ο μεταβολισμός των λιποπρωτεϊνών και ειδικότερα ο ρυθμός απομάκρυνσης των λιποπρωτεϊνών από τη κυκλοφορία αποτελεί ένα άλλο ρυθμιστικό παράγοντα της ενεργότητας της PAF-AH [15,16,28].



Η PAF-AH συνδέεται με τις λιποπρωτεΐνες του πλάσματος (είναι υδρόφοβο μόριο) και μεταφέρεται κατά 80-85% με τις λιποπρωτεΐνες που περιέχουν την απολιποπρωτεΐνη B 100 (με τις LDL και κυρίως με τα μικρά πυκνά LDL σωματίδια) και κατά 15-20% με τις HDL (κυρίως με το υποκλάσμα πολύ υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης 1 -VHDL1 που είναι γνωστό και ως HDL<sub>3c</sub>-, δηλαδή με τα πυκνά λιποπρωτεϊνικά σωματίδια) [15,16]. Όπως είναι λογικό η αυστηρή εξειδίκευση του υποστρώματος που καταλύει η PAF-AH είναι απαραίτητη, αφού έτσι προστατεύεται η ανεξέλεγκτη υδρόλυση των φωσφολιπιδίων των λιποπρωτεϊνών και των κυτταρικών μεμβρανών [15,16].

Η κατανομή της PAF-AH μεταξύ της LDL και της HDL εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, ένας από τους οποίους είναι η Lp(a), ιδίως όταν η συγκέντρωσή της υπερβαίνει τα 30 mg/dL [67] (το σωματίδιο της Lp(a) αποτελείται βασικά από ένα σωματίδιο LDL, η απολιποπρωτεΐνη B του οποίου είναι συνδεδεμένη με ένα δισουλφιδικό δεσμό με την απολιποπρωτεΐνη a) [68].

Η σύνδεση της PAF-AH κυρίως με τις LDL εξηγείται από τη συνάφεια της PAF-AH με την απολιποπρωτεΐνη B-100 (απο B-100) και ειδικότερα με το καρβοξυ-τελικό τμήμα της [69]. Πράγματι, κατά την απομόνωση του ενζύμου απομονώνεται και ένα τμήμα από το καρβοξυ-τελικό άκρο της apo B-100, ενώ σε άτομα με υποβηταλιποπρωτεϊναιμία ή αβηταλιποπρωτεϊναιμία το ένζυμο συνδέεται αποκλειστικά με τις HDL. Πρόσφατα με site directed mutagenesis διαπιστώθηκε ότι τα αμινοξέα του ενζύμου που παίρνουν μέρος σε αυτή τη σύνδεση είναι η Tyr-205, η Trp-115 και η Leu-116 [69]. Ενδιαφέρον παρουσιάζει η παρατήρηση ότι η εισαγωγή των δύο τελευταίων αμινοξέων στις αντίστοιχες θέσεις της PAF-AH του ποντικού, που συνδέονται αποκλειστικά με τις HDL, οδηγεί στο σχηματισμό ενός ενζύμου το οποίο έχει την ικανότητα να συνδέεται με την ανθρώπινη LDL. Το τμήμα της





απολιποπρωτεΐνης B-100 που συμμετέχει στη σύνδεση με το ένζυμο βρίσκεται στο καρβοξυ-τελικό άκρο της. Ειδικότερα, φαίνεται ότι τα αμινοξέα 4119-4279 διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη σύνδεση των LDL σωματιδίων με την PAF-AH [69]. Παρόμοιος φαίνεται να είναι και ο τρόπος σύνδεσης της PAF-AH με την Lp(a), αφού η ανοσοκαταβύθιση της Lp(a) με αντισώματα κατά της απολιποπρωτεΐνης B οδηγεί σε πλήρη απώλεια της ενζυμικής ενεργότητας. Αντίθετα, η χρησιμοποίηση αντισωμάτων κατά της apo(a) δεν επηρεάζει την δραστικότητα της PAF-AH, γεγονός που υποδηλώνει ότι και στην Lp(a) το ένζυμο συνδέεται με την απολιποπρωτεΐνη B.

Έτσι λοιπόν μέχρι σήμερα ο μόνος πειραματικά επιβεβαιωμένος τρόπος σύνδεσης της PAF-AH με τα σωματίδια της LDL είναι διαμέσου της απολιποπρωτεΐνης B. Παρόλα αυτά, διάφορες παρατηρήσεις δείχνουν ότι πιθανά αυτός ο τρόπος σύνδεσης δεν είναι ο μοναδικός. Οι παρατηρήσεις αυτές προέρχονται από πειράματα ενσωμάτωσης απομονωμένου ενζύμου PAF-AH σε LDL σωματίδια των οποίων η ενδογενής PAF-AH είχε απενεργοποιηθεί με DFP, ένα αναστολέα ο οποίος συνδέεται μη αντιστρεπτά στο ενεργό κέντρο και εμποδίζει την υδρόλυση του υποστρώματος. Στα πειράματα αυτά το απομονωμένο ένζυμο συνδέθηκε στα λιποπρωτεϊνικά σωματίδια παρά την ύπαρξη του ενδογενούς (απενεργοποιημένου) ενζύμου [70]. Κατά συνέπεια, είτε η απολιποπρωτεΐνη B περιέχει περισσότερες της μίας θέσεις πρόσδεσης του ενζύμου, είτε το απομονωμένο ένζυμο συνδέεται με κάποιο άλλο σημείο του σωματιδίου. Η ικανότητα της PAF-AH να συνδέεται (και μάλιστα μη αντιστρεπτά) με κυστίδια φωσφολιπιδίων [71] οδηγεί στην υπόθεση ότι το ένζυμο μπορεί να συνδεθεί με τη στιβάδα των φωσφολιπιδίων της LDL.

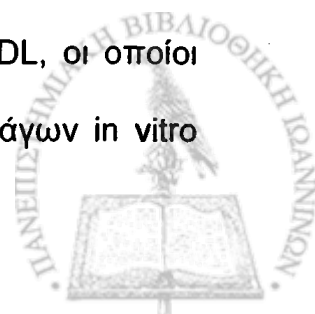


### PAF-AH και αθηροσκλήρωση:

Ο ρόλος της PAF-AH που συσχετίζεται με τις LDL στην εμφάνιση των αθηρωματικών βλαβών δεν είναι ξεκάθαρος. Από τη στιγμή που η PAF-AH ρυθμίζει το μεταβολισμό του PAF και των οξειδωμένων φωσφολιπιδίων, το ένζυμο εμπλέκεται αυτόματα στην αθηρωματική διαδικασία. Στο σημείο αυτό πρέπει να αναφέρουμε τη παθοφυσιολογία της αθηρωμάτωσης.

Είναι γνωστό ότι ένα από τα πρώτα στάδια που παρατηρούνται κατά τη δημιουργία της αθηρωματικής πλάκας είναι ο σχηματισμός των αφρωδών κυττάρων (foam cells) [17]. Τα κύτταρα αυτά είναι στην πραγματικότητα μακροφάγα του αγγειακού τοιχώματος (ή και λεία μυϊκά κύτταρα) που έχουν φαγοκυτταρώσει λιποπρωτεϊνικά σωματίδια (κυρίως LDL σωματίδια) και τα οποία εκκρίνουν στη συνέχεια μια πληθώρα διαβιαστών που επάγουν τη φλεγμονώδη διαδικασία στο τοίχωμα των αρτηριών [17]. Μελέτες έδειξαν ότι στο φαινόμενο της φαγοκυττάρωσης των λιποπρωτεϊνών από τα μακροφάγα δεν συμμετέχει ο κλασσικός LDL- υποδοχέας, άλλα ένας διαφορετικός υποδοχέας που ονομάζεται υποδοχέας-καθαριστής (scavenger receptor) [72]. Ο υποδοχέας αυτός εκφράζεται συνεχώς στην επιφάνεια των ενεργοποιημένων μακροφάγων και η λειτουργικότητά του, σε αντίθεση με τον κλασσικό LDL υποδοχέα, δεν επηρεάζεται από τα ενδοκυττάρια επίπεδα χοληστερόλης [72,73].

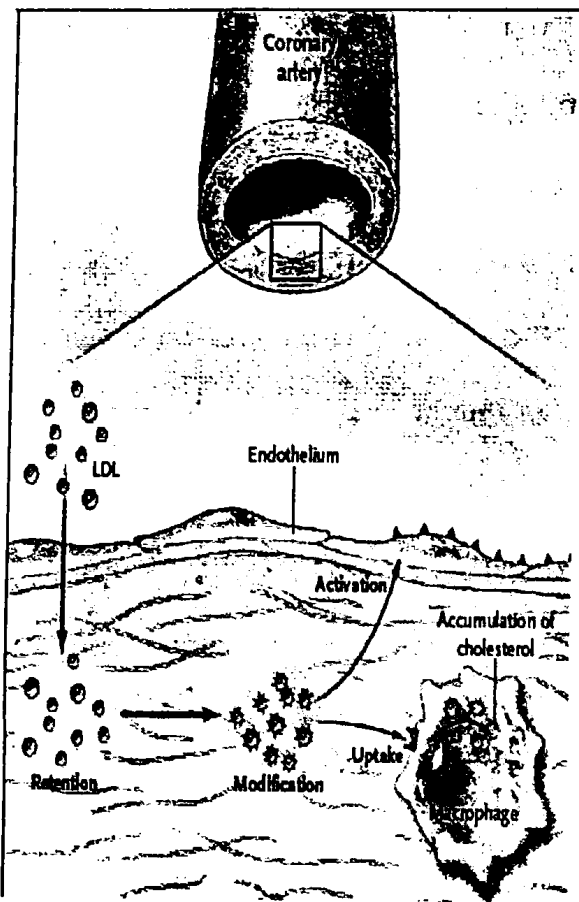
Ένα παράδοξο φαινόμενο που παρατηρήθηκε κατά τη διάρκεια της μελέτης του μηχανισμού του σχηματισμού των αφρωδών κυττάρων είναι ότι η LDL δεν προσλαμβάνεται από τα μακροφάγα στη φυσική της μορφή [74]. Το γεγονός αυτό οδήγησε στη διατύπωση της άποψης ότι τα σωματίδια της LDL πρέπει να υποστούν κάποια μετατροπή για να αναγνωρισθούν από τον υποδοχέα-καθαριστή [74]. Μέχρι σήμερα έχουν περιγραφεί αρκετοί τρόποι χημικής τροποποίησης της LDL, οι οποίοι αυξάνουν τη συγγένειά της με τους υποδοχείς-καθαριστές των μακροφάγων *in vitro*



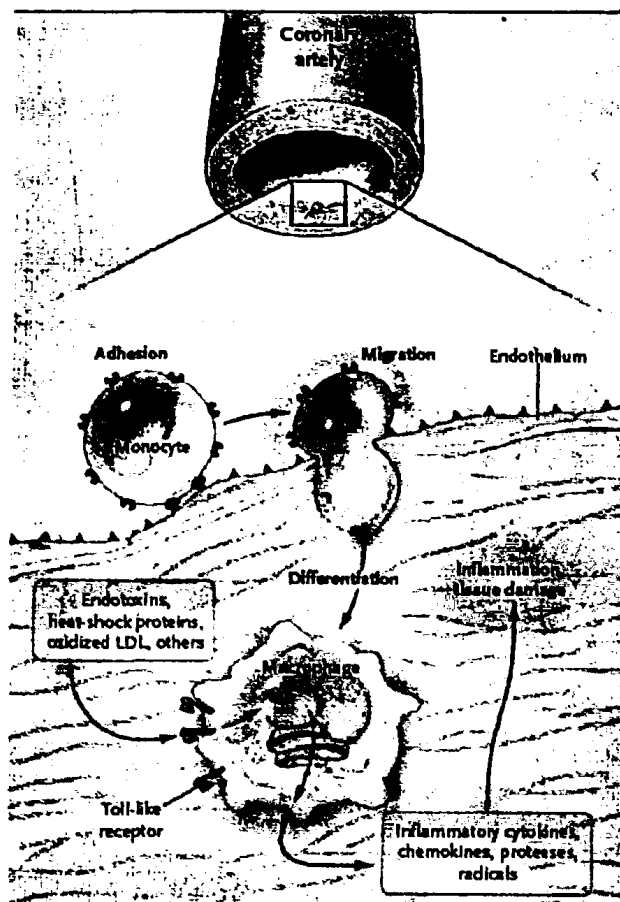
[23,75]. Ωστόσο, η *in vivo* παρουσία αυτών των τροποποιημένων μορφών των LDL σωματιδίων, καθώς και η σημασία τους στην παθογένεια της αθηρωματικής νόσου αμφισβητούνται. Εξαίρεση αποτελεί η οξειδωμένη LDL (ox-LDL). Με αυτό τον όρο περιγράφονται τα σωματίδια της LDL τα οποία έχουν υποστεί την επίδραση διαφόρων οξειδωτικών παραγόντων και τα οποία εμφανίζουν συγκεκριμένα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά (κατακερματισμός της απολιποπρωτεΐνης B100, αύξηση της ηλεκτροφορητικής κινητικότητας, αύξηση της πυκνότητας κτλ) [76,77]. Οι ενδείξεις για την *in vivo* παρουσία αυτών των σωματιδίων [78,79], ο αυξημένος καταβολισμός τους από τα μακροφάγα [75], καθώς και η αξιοσημείωτη βιολογική τους δραστικότητα οδήγησαν στη διατύπωση της οξειδωτικής υπόθεσης της αθηρωμάτωσης, δηλαδή της υπόθεσης σύμφωνα με την οποία η οξείδωση των λιπιδίων καθώς και των λιπιδίων των κυτταρικών μεμβρανών αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα πρώιμα στάδια στη διαδικασία του σχηματισμού της αθηρωματικής πλάκας [25,80,81].

Αν και ο υπεύθυνος μηχανισμός για την *in vivo* οξείδωση της LDL δεν είναι σαφώς καθορισμένος [82], οι φλεγμονώδεις ιδιότητες των οξειδωμένων λιποπρωτεϊνικών σωματιδίων έχουν μελετηθεί διεξοδικά. Συγκεκριμένα, η ox-LDL δρα χημειοτακτικά για τα κυκλοφορούντα μονοκύτταρα και τα T-λεμφοκύτταρα [83-85], αναστέλλει την εξαρτώμενη από τα ενδοθηλιακά κύτταρα αγγειοδιαστολή (endothelial cell-dependent relaxation) [86], διεγείρει την παραγωγή κυτταροκινών από τα κύτταρα της αθηρωματικής πλάκας [87], προάγει το σχηματισμό αυτοαντισωμάτων [78], διεγείρει την παραγωγή ενζύμων που καταστρέφουν τη διάμεση ουσία της πλάκας (matrix) [88] και τέλος είναι άμεσα τοξική για τα κύτταρα του αγγειακού τοιχώματος [89], (Εικόνα 4).



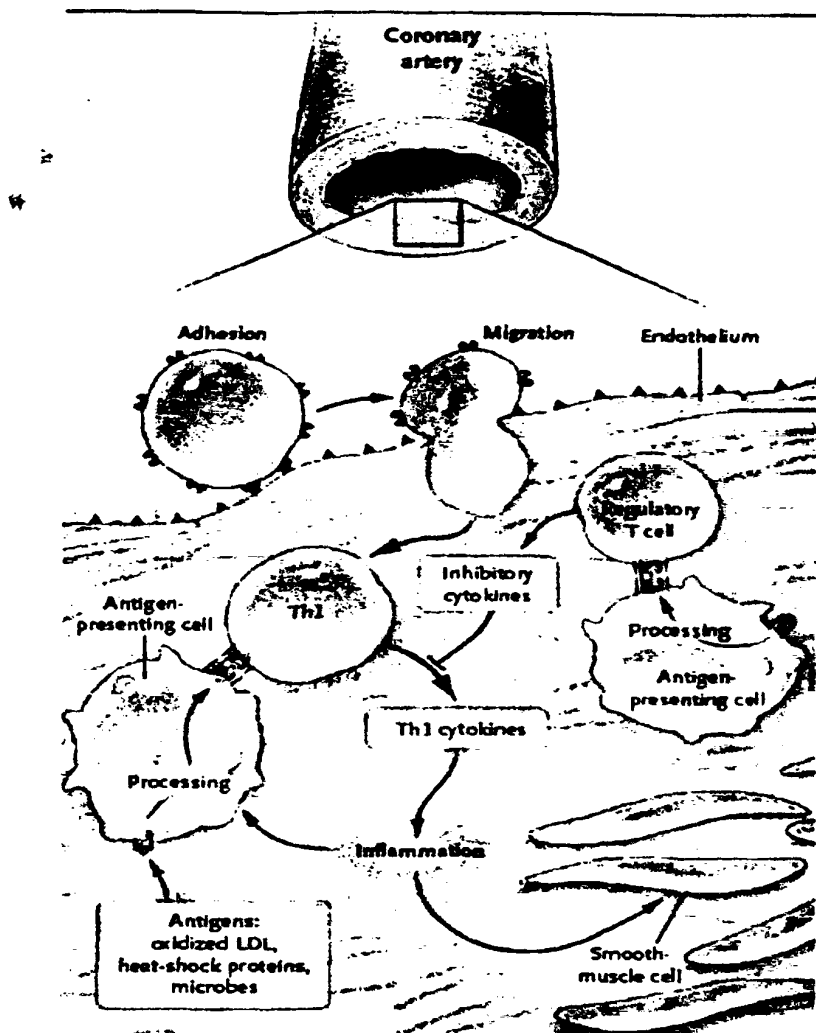


a)



β)





γ)

**Εικόνα 4: Φλεγμονώδεις αντιδράσεις και αθηρωμάτωση:**

α) Η οξείδωση της LDL έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία προσκολλητικών μορίων στο αγγειακό τοίχωμα, ενώ παράλληλα τα οξειδωμένα LDL σωματίδια προσλαμβάνονται από τους υποδοχείς-καθαριστές των μακροφάγων με αποτέλεσμα τα τελευταία να μετατρέπονται σε αφρώδη κύτταρα.

β) Τα μονοκύτταρα της κυκλοφορίας διαφοροποιούνται σε μακροφάγα, τα οποία μετά την επίδραση ενδοτοξινών, οξειδωμένης LDL και πρωτεϊνών θερμικής καταπληξίας (heat shock proteins) προάγουν τη φλεγμονώδη διαδικασία.

γ) Συμμετοχή των Τ-λεμφοκυττάρων στη φλεγμονώδη φάση της αθηρωμάτωσης.

Η άποψη ότι η PAF-AH του πλάσματος διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεια της αθηρωμάτωσης βασίσθηκε στην παρατήρηση ότι κατά τη διάρκεια της οξείδωσης της LDL σχηματίζονται οξειδωμένα φωσφολιπίδια. Τα φωσφολιπίδια αυτά υδρολύονται με τη βοήθεια της PAF-AH με αποτέλεσμα το σχηματισμό λυσοφωσφατιδυλοχολίνης (lyso-PC) [90]. Η δράση αυτή προέκυψε από παρατηρήσεις των Steinbrecher και Pritchard, οι οποίοι με βάση το μοριακό βάρος του ενζύμου, την εξειδίκευση του απέναντι σε διάφορα υποστρώματα και την εκλεκτική του αναστολή από αναστολείς των σερίνεστερασών, κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η PAF-AH του πλάσματος είναι το ένζυμο που ευθύνεται για την υδρόλυση των φωσφολιπιδίων που παρατηρείται κατά τη διάρκεια της οξείδωσης της LDL [91]. Οι ίδιοι ερευνητές διατύπωσαν την άποψη ότι κατά τη διάρκεια της οξείδωσης της LDL τα φωσφολιπίδια που περιέχουν ακόρεστα λιπαρά οξέα στη θέση 2 της γλυκερόλης υφίστανται σχάση του διπλού δεσμού με αποτέλεσμα το σχηματισμό οξειδωμένων λιπαρών οξέων στη θέση 2 ή λιπαρών οξέων βραχείας αλυσίδας, τα οποία αποτελούν κατάλληλο υπόστρωμα για την PAF-AH [91]. Με αυτό το μηχανισμό εξηγείται γιατί η υδρόλυση των φωσφολιπιδίων παρατηρείται αποκλειστικά στην οξειδωμένη LDL και όχι στα λιποπρωτεϊνικά σωματίδια που δεν έχουν υποστεί την επίδραση οξειδωτικών παραγόντων.

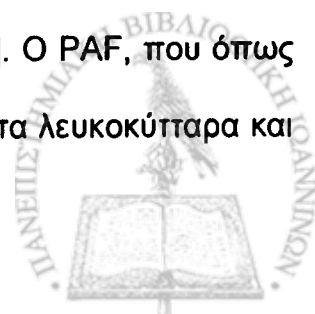
Η παθοφυσιολογική σημασία των παραπάνω παρατηρήσεων έγινε κατανοητή λίγο αργότερα όταν διαπιστώθηκε ότι τα οξειδωμένα φωσφολιπίδια της LDL διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ικανότητά της να επάγει την αθηρωματική διαδικασία [92]. Πράγματι, αν και η ανεξέλεγκτη οξείδωση των λιπιδίων των λιποπρωτεϊνών και των κυτταρικών μεμβρανών των κυττάρων της αθηρωματικής πλάκας οδηγεί στο σχηματισμό πολυάριθμων προϊόντων με άγνωστη δομή, μελέτες



έδειξαν ότι τα οξειδωμένα φωσφολιπίδια συμμετέχουν ενεργά στην παθοφυσιολογία της αθηρωμάτωσης [92].

Ένα από τα πιο σημαντικά ευρήματα των αρχικών μελετών που εξέτασαν τις δράσεις αυτών των λιπιδίων ήταν ότι η χρήση των ειδικών αναστολέων του υποδοχέα του PAF καταργεί πλήρως τη βιολογική τους δραστηριότητα [93-95]. Έτσι, το γεγονός ότι τα οξειδωμένα φωσφολιπίδια δρουν διαμέσου του υποδοχέα του PAF, καθώς και η ικανότητά τους να αναπαράγουν τις δράσεις αυτού του φλεγμονώδους διαβιβαστή οδήγησε στο χαρακτηρισμό τους ως λιπίδια που μοιάζουν με τον PAF (PAF-like lipids) [93,95,96]. Τέτοια λιπίδια παράγονται κατά την οξείδωση όλων των λιποπρωτεϊνών που περιέχουν απολιποπρωτεΐνη Β [97], καθώς και κατά την οξείδωση των λιπιδίων των κυτταρικών μεμβρανών [98]. Πρόσφατες μελέτες επιβεβαίωσαν την *in vivo* παρουσία τους στο πλάσμα [99], καθώς και στις αθηρωματικές πλάκες πειραματόζων με γενετική προδιάθεση για την εμφάνιση αθηρωμάτωσης [100]. Η μεγάλη σημασία των οξειδωμένων φωσφολιπιδίων στο σχηματισμό της αθηρωματικής πλάκας βασίζεται στο γεγονός ότι σε αντιδιαστολή με τον PAF, ο οποίος παράγεται και καταβολίζεται με αυστηρά ελεγχόμενο τρόπο, η παραγωγή αυτών των φωσφολιπιδίων είναι τελείως ανεξέλεγκτη. Κατά συνέπεια, ο μόνος τρόπος ελέγχου της βιολογικής δραστηριότητας αυτών των μορίων είναι η ενζυμική τους διάσπαση. Η θεωρία σύμφωνα με την οποία η PAF-AH του πλάσματος διαδραματίζει σημαντικό αντιαθηρογόνο ρόλο βασίζεται ακριβώς στην ικανότητά της να καταβολίζει τα οξειδωμένα φωσφολιπίδια με αποτέλεσμα την αναστολή της αθηρωματικής διαδικασίας *in vitro* [93,97,101,102].

Επιπρόσθετα, μελέτες έδειξαν ότι κατά την οξείδωση των LDL σωματιδίων σχηματίζεται σε αυτά αυθεντικός PAF [103], ο οποίος επάγει τη φλεγμονώδη διεργασία και κατά συνέπεια το σχηματισμό της αθηρωματικής πλάκας [104]. Ο PAF, που όπως είναι γνωστό παράγεται κατά την οξείδωση των LDL, ενεργοποιεί τα λευκοκύτταρα και



τα αιμοπετάλια, αυξάνει τη προσκόλληση των λευκοκυττάρων στο αρτηριακό τοίχωμα, ενώ έχει βρεθεί σε αυξημένες ποσότητες στην αθηρωματική πλάκα [105,106]. Έτσι, η ικανότητα της PAF-AH να διασπά αυτό το φλεγμονώδη διαβιβαστή συμβάλλει περαιτέρω στον αντιαθηρογόνο ρόλο του ενζύμου. Κατά συνέπεια, θα μπορούσαμε να προσδώσουμε στην PAF-AH (τη σχετιζόμενη με τις LDL) αντι-αθηρογόνες ιδιότητες, αφού εμποδίζει τόσο τον PAF, όσο και τα οξειδωμένα φωσφολιπίδια να συσσωρευθούν στις LDL. Ωστόσο, αυτός είναι ο κύριος τρόπος δράσης της HDL-PAF-AH, ενώ για την LDL-PAF-AH τα πράγματα δεν είναι ξεκάθαρα.

Έτσι, παράλληλα με την αντιαθηρογόνο και την αντιφλεγμονώδη δράση, η LDL-PAF-AH μπορεί να εκφράζει και δράσεις που ευοδώνουν την αθηρωμάτωση και τη φλεγμονή του αγγειακού τοιχώματος [15,16]. Η άποψη αυτή βασίζεται στην υπόθεση ότι τα προϊόντα της αντίδρασης που καταλύεται από το ένζυμο (δηλαδή η λυσοφωσφατιδυλχολίνη και τα οξειδωμένα λιπαρά οξέα που προέρχονται από την υδρόλυση των οξειδωμένων φωσφολιπιδίων) είναι πιο τοξικά από τα ίδια τα οξειδωμένα φωσφολιπίδια, με αποτέλεσμα να επάγουν το σχηματισμό της αθηρωματικής πλάκας [107,108]. Πράγματι, μελέτες έδειξαν ότι η λυσοφωσφατιδυλχολίνη συμμετέχει στην αντιγονικότητα της ox-LDL [109], προάγει τη σύνθεση διαφόρων αυξητικών παραγόντων από τα κύτταρα του αρτηριακού τοιχώματος [110], δρα ως μιτογόνος παράγοντας για τα μακροφάγα και τα λεία μυϊκά κύτταρα [111], επάγει τη σύνθεση προσκολλητικών μορίων από τα ενδοθηλιακά κύτταρα [112] και δρα χημειοτακτικά για τα μακροφάγα [83]. Η θεώρηση ότι η λυσοφωσφατιδυλχολίνη ευθύνεται σε μεγάλο βαθμό για την ικανότητα της ox-LDL να επάγει την αθηρωματική διαδικασία υποστηρίζεται έμμεσα και από την παρατήρηση ότι τα κατεχοχήν αθηρογόνα μικρά πυκνά LDL σωματίδια περιέχουν σημαντικά



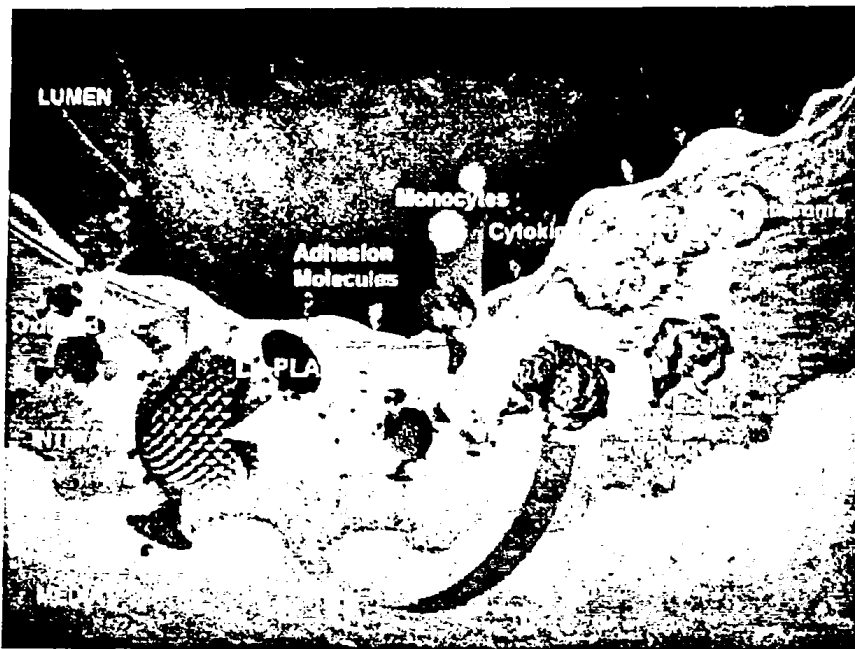


μεγαλύτερες συγκεντρώσεις αυτού του μορίου σε σύγκριση με τα μεγαλύτερα και λιγότερο αθηρογόνα υποκλάσματα των LDL [113].

Ο μηχανισμός με τον οποίο η λυσοφωσφατιδυλοχολίνη ασκεί τις βιολογικές δράσεις της δεν είναι γνωστός. Κάποιες από τις ιδιότητες του μορίου έχουν αποδοθεί στην ικανότητά του να συνδέεται και να ενεργοποιεί τον υποδοχέα του PAF [114,115]. Ωστόσο, η σύνδεση αυτή της λυσοφωσφατιδυλοχολίνης στον υποδοχέα του PAF (παρά το γεγονός ότι το μόριο της δεν διαθέτει τα απαραίτητα δομικά χαρακτηριστικά για τη σύνδεση με αυτό τον υποδοχέα εξαιτίας της έλλειψης της ακετυλ-ομάδας στη θέση 2), σε συνδυασμό με την παρατήρηση ότι η PAF-AH καταστρέφει τη βιολογική δραστηριότητα του μορίου, οδήγησαν στη διατύπωση της άποψης ότι η λυσοφωσφατιδυλοχολίνη δεν εμφανίζει σημαντική βιολογική δραστηριότητα και ότι η ικανότητά της να ευοδώνει τη φλεγμονώδη διαδικασία *in vitro* οφείλεται ουσιαστικά στην παρουσία προσμίξεων οξειδωμένων φωσφολιπιδίων κατά τη διαδικασία της απομόνωσης του μορίου [116]. Άρα, η φωσφατιδυλοχολίνη συμμετέχει στη δημιουργία αθηρωματικών πλακών τόσο άμεσα, όσο και διαμέσου του εμπλουτισμού των πυκνών LDL σωματιδίων με τη λυσοφωσφατιδυλοχολίνη, με αποτέλεσμα να αυξάνεται η αθηρογόνος δράση τους [107].

Το δεύτερο προϊόν της αντίδρασης που καταλύεται από την PAF-AH του πλάσματος είναι τα οξειδωμένα ελεύθερα λιπαρά οξέα. Αν και ο βιολογικός τους ρόλος δεν είναι καλά μελετημένος, τα μόρια αυτά μπορεί να επάγουν την αθηρωματική διαδικασία δρώντας χημειοτακτικά για τα μονοκύτταρα [108] ή συμμετέχοντας στην τροποποίηση της απολιποπρωτεΐνης B 100 της LDL κατά τρόπο που την καθιστά αναγνωρίσιμη από τους υποδοχείς-καθαριστές των μακροφάγων [117], (Εικόνα 5, Πίνακας 2).





Εικόνα 5: Δημιουργία lysoPC και οξειδωμένων λιπαρών οξέων (oxFA) κατά τη δράση της PAF-AH στην οξειδωμένη LDL (oxLDL).

Πίνακας 2: Προτεινόμενες αθηρογόνες δράσεις των προϊόντων της υδρόλυσης της οξειδωμένης LDL από την PAF-AH (lysoPC, oxNEFA).

Μεσολαβητής	Κυτταρικός στόχος	Αποτέλεσμα
lysoPC	Ενδοθηλιακά κύτταρα	Αύξηση των προσκολλητικών μορίων, απελευθέρωση του αραχιδονικού οξέως, παρεμπόδιση της αγγειοδιαστολής από το οξείδιο του αζώτου (NO), μείωση της απόπτωσης
	Λεία μυϊκά κύτταρα	Αύξηση της έκφρασης των γονιδίων των αυξητικών παραγόντων, αύξηση της παραμονής της LDL στο αγγειακό τοίχωμα, ελάττωση της απόπτωσης, αύξηση του monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)
	Μονοκύτταρα/μακροφάγα	Αύξηση της έκκρισης κυτταροκινών, αύξηση της χημειοταξίας, αύξηση της απόπτωσης
	T-λεμφοκύτταρα	Αύξηση της χημειοταξίας, έκκριση ιντερφερόνης-γ
	Ουδετερόφιλα	Αύξηση της χημειοταξίας, έκκριση ελασάσης, αύξηση του οξειδωτικού stress διαμέσου της ενεργοποίησης της οξειδάσης του NADPH
oxNEFA	Μονοκύτταρα/μακροφάγα	Αύξηση της ικανότητας να διαπερνούν το αγγειακό τοίχωμα και της απόπτωσης

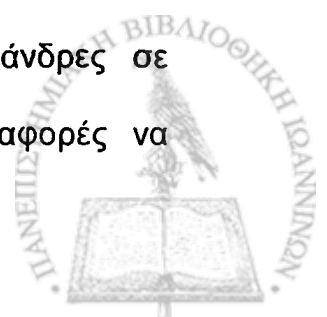


Από τα παραπάνω είναι προφανές ότι με τα μέχρι τώρα πειραματικά δεδομένα δεν μπορεί να καθορισθεί ο ακριβής ρόλος της PAF-AH του πλάσματος στην αθηρωματική διαδικασία. Έτσι, τόσο ο αντιαθηρογόνος ρόλος του ενζύμου όσο και η ικανότητά του να επάγει την αθηρωματική διαδικασία διαμέσου του σχηματισμού τοξικών μεταβολιτών υποστηρίζονται από πληθώρα μελετών και μοιάζουν να είναι πέρα από κάθε αμφισβήτηση. Ωστόσο, η αδυναμία των *in vitro* μελετών να αναπαράγουν τις πραγματικές συνθήκες που επικρατούν στην αθηρωματική πλάκα και γενικότερα στο σύνολο του ανθρώπινου οργανισμού αποτελούν σημαντικούς περιοριστικούς παράγοντες για την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων. Για παράδειγμα, ο PAF και τα οξειδωμένα φωσφολιπίδια ασκούν τις βιολογικές δράσεις τους σε συγκεντρώσεις πολύ μικρότερες από ότι η λυσοφωσφατιδυλχολίνη, γεγονός που δεν μπορεί να αναπαραχθεί σε συνθήκες κυτταροκαλλιέργειας και που έμμεσα υποστηρίζει τον αντιαθηρογόνο ρόλο του ενζύμου. Επιπρόσθετα, η *in vivo* παρουσία μορίων όπως η αλβουμίνη και η HDL, που μπορούν και δεσμεύουν τόσο τα οξειδωμένα φωσφολιπίδια όσο και τα προϊόντα της διάσπασής τους από την PAF-AH του πλάσματος [118], καθιστά προβληματική την αναγωγή των αποτελεσμάτων των *in vitro* πειραμάτων στον ανθρώπινο οργανισμό.

#### Παράγοντες που επηρεάζουν την ενεργότητα της PAF-AH:

Πολλοί παράγοντες συσχετίζονται με την ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος. Είναι γνωστό ότι η ενεργότητα της PAF-AH σε ένα υγιή πληθυσμό ενηλίκων μπορεί να ποικίλλει έως και 5 φορές από την τιμή αναφοράς [15,16].

- Ηλικία-φύλο: η ενεργότητα της PAF-AH εξαρτάται από το φύλο εξαιτίας της δράσης των οιστρογόνων (υψηλότερη ενζυμική ενεργότητα στους άνδρες σε σύγκριση με τις γυναίκες της ίδιας ηλικίας, με τις μεγαλύτερες διαφορές να



παρατηρούνται κυρίως μεταξύ ανδρών και προ-εμμηνοπαυσιακών γυναικών), ενώ αυξάνεται με τη πρόοδο της ηλικίας, γεγονός που συσχετίζεται με τη συσσώρευση οξειδωμένων φωσφολιπιδίων σε ηλικιωμένα άτομα [28,119].

- Γενετικοί παράγοντες: γενετικοί παράγοντες (το υπεύθυνο γονίδιο για την παραγωγή της PAF-AH βρίσκεται στο χρωμόσωμα 6p12-21.1) θα μπορούσαν να εξηγήσουν μέχρι και το 60% της διακύμανσης της ενεργότητας της PAF-AH του πλάσματος [15,16,120].

Στους Ιάπωνες έχει περιγραφεί μία σημειακή μετάλλαξη του γονιδίου της PAF-AH που κληρονομείται με τον αυτοσωματικό υπολειπόμενο χαρακτήρα και προκαλεί στην ομόζυγη μορφή της την πλήρη εξάλειψη της ενζυμικής ενεργότητας [121]. Η μετάλλαξη αυτή συνίσταται σε αντικατάσταση της γουανίνης από θυμίνη στη θέση 994 (G994T), που μεταφράζεται σε αντικατάσταση της βαλίνης από φαινυλαλανίνη στη θέση 279 του ενζύμου (Val279Phe). Αν και αρχικά θεωρήθηκε ότι η μετάλλαξη αυτή απαντάται αποκλειστικά στους Ιάπωνες (το 27% των ατόμων έχει την ετερόζυγη μορφή και το 4% την ομόζυγη μορφή), πρόσφατες μελέτες έδειξαν την ύπαρξη αυτής της μετάλλαξης και σε άλλους πληθυσμούς της κεντρικής Ασίας [122].

Ένας άλλος πολυμορφισμός του γονιδίου της PAF-AH που προκαλεί πλήρη εξάλειψη της ενζυμικής ενεργότητας του πλάσματος συνίσταται σε αντικατάσταση της αδενίνης από γουανίνη στη θέση 1001 (A1001G) που μεταφράζεται σε αντικατάσταση της γλυκίνης από αργινίνη στη θέση 281 (Gln281Arg) [123]. Οι δύο αυτές μεταλλάξεις που προκαλούν ελάττωση της δραστηριότητας της PAF-AH, η G994T και η A1001G, έχουν επίσης συσχετισθεί με νοσήματα, όπως το αλλεργικό άσθμα, η εγκεφαλική αιμορραγία, το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου και το αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο [15,16,28,119]. Σε πρόσφατη μελέτη 5248 Γιαπωνέζων ανδρών και γυναικών αναφέρεται ότι η μετάλλαξη G994T συσχετίζεται με την εμφάνιση στεφανιαίας νόσου



σε υπερχοληστερολαιμικούς άνδρες [124]. Στο σημείο αυτό πρέπει να σημειώσουμε ότι η μετάλλαξη G994T στον Ιαπωνικό πληθυσμό επηρεάζει και την ενεργότητα της HDL-PAF-AH [125]. Έτσι, ο αυξημένος καρδιαγγειακός κίνδυνος που συνοδεύει αυτή τη μετάλλαξη μπορεί να οφείλεται στη μείωση της ενεργότητας του αντιαθηρογόνου ενζύμου των HDL και όχι στις μεταβολές του ενζύμου του πλάσματος [2]. Αντίθετα, οι γενετικοί παράγοντες που καθορίζουν την ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος είναι τελείως ανεξάρτητοι από αυτούς που καθορίζουν τα επίπεδα της LDL-C [15,16,120].

Τέλος, άλλοι 3 πολυμορφισμοί του γονιδίου της PAF-AH έχουν περιγραφεί με άγνωστη έως σήμερα λειτουργική σημασία (T593C, T1136C, G275A) [126-128].

- LDL και Apo B: πολύ μεγάλη επίδραση στην ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος έχει η συγκέντρωση των LDL (και ιδιαίτερα η συγκέντρωση των μικρών πυκνών LDL σωματιδίων) και της Apo B [120,129]. Δεδομένου ότι τα αιμοποιητικά κύτταρα που αποτελούν τη βασική πηγή προέλευσης του ενζύμου του πλάσματος δεν παράγουν λιποπρωτεΐνες, είναι προφανές ότι η PAF-AH παράγεται ανεξάρτητα από τα λιποπρωτεϊνικά σωματίδια και ενσωματώνεται σε αυτά σε κάποια φάση του μεταβολισμού τους. Στο συμπέρασμα αυτό συνηγορούν και μελέτες σε ασθενείς με συγγενείς διαταραχές του μεταβολισμού των λιπιδίων που έδειξαν ότι η παρουσία των λιποπρωτεϊνών δεν είναι απαραίτητη προϋπόθεση για την παραγωγή του ενζύμου. Έτσι, τόσο οι ασθενείς με αβηταλιποπρωτεϊναιμία, όσο και οι ασθενείς με νόσο Tangier (νοσήματα που χαρακτηρίζονται από πλήρη έλλειψη των λιποπρωτεϊνών που περιέχουν απολιποπρωτεΐνη B και HDL, αντίστοιχα) έχουν φυσιολογική ενεργότητα της PAF-AH στο πλάσμα [61,130].

Συνεπώς, λαμβάνοντας υπόψη ότι η παραγωγή των LDL είναι ανεξάρτητη από την έκκριση της PAF-AH του πλάσματος, συμπεραίνουμε ότι η συσχέτιση των LDL με την



ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος έχει να κάνει με το ρυθμό της απομάκρυνσης των LDL από την κυκλοφορία [120,129]. Ειδικότερα, ο ρυθμός απομάκρυνσης των LDL από την κυκλοφορία ευθύνεται τόσο για τη συγκέντρωση της PAF-AH του πλάσματος, όσο και για την κατανομή του ενζύμου στα λιποπρωτεϊνικά σωματίδια. Αυτός είναι ο λόγος που τα μικρά πυκνά LDL σωματίδια, που απομακρύνονται πιο αργά από την κυκλοφορία συγκριτικά με τα μεγάλα λιγότερο πυκνά σωματίδια εξαιτίας της ελαττωμένης τάσης σύνδεσης τους με τον LDL υποδοχέα, έχουν ως αποτέλεσμα την αύξηση της ενεργότητας της PAF-AH του πλάσματος [131]. Επιπρόσθετα, σε ασθενείς με πρωτοπαθή υπερλιπιδαιμία (τύπου IIA, IIB και IV) παρατηρείται αυξημένη ενεργότητα της LDL-PAF-AH και αυξημένος λόγος LDL-PAF-AH/HDL-PAF-AH και μάλιστα κατά τρόπο ανάλογο με τη συγκέντρωση της LDL-C, με αποτέλεσμα οι ασθενείς με ομόζυγη οικογενή υπερχοληστερολαιμία να παρουσιάζουν τις υψηλότερες τιμές της ενζυμικής ενεργότητας, ενώ οι ασθενείς με μη οικογενή υπερχοληστερολαιμία να παρουσιάζουν τις χαμηλότερες τιμές της ενεργότητας της PAF-AH του πλάσματος [129,132-135]. Η αύξηση της PAF-AH που παρατηρείται στους ασθενείς με πρωτοπαθή υπερλιπιδαιμία (οικογενή ή μη οικογενή) οφείλεται κυρίως στην επιλεκτική αύξηση της συγκέντρωσης της στα πυκνά υποκλάσματα της LDL, δηλαδή στα LDL-4 και LDL-5 [15,16,28].

- Στατίνες: η συσχέτιση της ενεργότητας της PAF-AH του πλάσματος (αλλά και της κατανομής της μεταξύ των LDL και των HDL) με το ρυθμό της απομάκρυνσης των LDL σωματιδίων από την κυκλοφορία καταδεικνύεται επίσης και από το γεγονός ότι οι στατίνες (λοβαστατίνη, ατορβαστατίνη), εξαιτίας της αυξημένης απομάκρυνσης από το ήπαρ των LDL (αύξηση του αριθμού και της δραστηριότητας των LDL υποδοχέων) μειώνουν και την ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος σε βαθμό ανάλογο με την ελάττωση της LDL-C, τόσο σε ασθενείς με πρωτοπαθή



υπερλιπιδαιμία (IIA) όσο και σε ασθενείς με μικτή υπερλιπιδαιμία (IIB) [133, 136,137]. Η μείωση της ενεργότητας της PAF-AH του πλάσματος μετά τη χορήγηση ατορβαστατίνης προέρχεται κυρίως από την ελάττωση της ενεργότητας του ενζύμου στα πυκνά υποκλάσματα της LDL, δηλαδή τα LDL-4 και LDL-5 [133]. Μάλιστα, in vitro πειράματα έδειξαν ότι η έκκριση της PAF-AH από τα μακροφάγα δεν ελαττώθηκε μετά τη χορήγηση ατορβαστατίνης, γεγονός που επιβεβαιώνει ότι η επίδραση της στατίνης στην ενεργότητα της PAF-AH δεν συσχετίζεται με τη παραγωγή της αλλά με το ρυθμό απομάκρυνσής της [15,16,133]. Βέβαια, η υπόθεση ότι η παραγωγή της PAF-AH του πλάσματος δεν συσχετίζεται με τα επίπεδα της LDL-C μένει να επιβεβαιωθεί και με in vivo πειράματα. Αντίθετα, καμία από τις στατίνες δεν φαίνεται να μεταβάλλει την ενεργότητα της HDL-PAF-AH, με αποτέλεσμα ο λόγος της ενεργότητας της HDL-PAF-AH προς την ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος να αυξάνεται μετά τη χορήγηση των στατινών [133,136,137]. Τέλος, η χορήγηση φλουβαστατίνης σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 ελάττωσε την ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος παράλληλα με τη μείωση των μικρών πυκνών LDL σωματιδίων [138].

- Φιμπράτες: μία άλλη κατηγορία φαρμάκων που επηρεάζουν την ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος είναι οι φιμπράτες. Η χορήγηση φενοφιμπράτης σε ασθενείς με δυσλιπιδαιμία τύπου IIA (πρωτοπαθή υπερχοληστερολαιμία), τύπου IIB (μικτή υπερλιπιδαιμία) και τύπου IV (πρωτοπαθή υπερτριγλυκεριδαιμία) είχε ως αποτέλεσμα την ελάττωση της ενεργότητας της PAF-AH του πλάσματος σε όλες τις ομάδες των ασθενών. Σε ασθενείς με δυσλιπιδαιμία τύπου IIA η ελάττωση της PAF-AH οφείλεται στη μείωση των μικρών πυκνών LDL σωματιδίων, ενώ στη δυσλιπιδαιμία τύπου IIB και IV οφείλεται στη μείωση τόσο των μικρών πυκνών LDL όσο και των πλούσιων σε τριγλυκερίδια λιποπρωτεϊνών (IDL, VLDL) [134,139].





Παράλληλα, η χορήγηση της φενοφιμπράτης είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της ενεργότητας της HDL-PAF-AH σε ασθενείς με δυσλιπιδαιμία τύπου IIB και IV (η οποία πριν τη χορήγηση της αγωγής ήταν ελαττωμένη και στους 2 τύπους δυσλιπιδαιμίας σε σύγκριση με υγιή άτομα). Η αύξηση της HDL-PAF-AH οφείλεται στην αύξηση της ενζυμικής ενεργότητας που συσχετίζεται με το υποκλάσμα HDL<sub>3c</sub> (VHDL1) [134]. Η ευεργετική αυτή επίδραση της φενοφιμπράτης στην ενεργότητα της HDL-PAF-AH δεν προκαλείται από διαφορές στην έκκρισή της από τα μακροφάγα. Αντίθετα η φενοφιμπράτη, διαμέσου της αύξησης της δραστηριότητας της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης, αυξάνει τη λιπόλυση με αποτέλεσμα τη μεταφορά του ενζύμου από τις πλούσιες σε τριγλυκερίδια apo B λιποπρωτεΐνες στις HDL [134]. Είναι φανερό ότι ο λόγος της ενεργότητας της HDL-PAF-AH προς την ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος αυξάνεται μετά τη χορήγηση της φενοφιμπράτης, όπως άλλωστε συμβαίνει και μετά τη χορήγηση της ατορβαστατίνης, με αποτέλεσμα τη βελτίωση της κατανομής της PAF-AH του πλάσματος μεταξύ των LDL και HDL σωματιδίων.

Αν και οι ασθενείς με πρωτοπαθή υπερχοληστερολαιμία εμφανίζουν αυξημένη συχνότητα καρδιαγγειακών επεισοδίων εξαιτίας της αυξημένης συγκέντρωσης της LDL-C, είναι δύσκολο να ενοχοποιήσουμε την αυξημένη ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος ως ένα επιπρόσθετο παράγοντα κινδύνου. Έτσι, δεν μπορούμε να διευκρινίσουμε αν η αύξηση της ενεργότητας της PAF-AH προάγει την αθηρογένεση ή η αυξημένη ενζυμική ενεργότητα αντιπροσωπεύει ένα αμυντικό μηχανισμό ενάντια στη δημιουργία της αθηρωματικής πλάκας [15,16,28]. Μάλιστα, από πειραματικά δεδομένα η χορήγηση ανασυνδυασμένης PAF-AH σε διάφορες καταστάσεις, όπως το αλλεργικό άσθμα, το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου και η νεφρική ανεπάρκεια είχε μάλλον απογοητευτικά αποτελέσματα, με μόνο ενθαρρυντικό αποτέλεσμα την



ελάττωση της πιθανότητας ανάπτυξης του συνδρόμου αναπνευστικής δυσχέρειας των ενηλίκων (ARDS) σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς μετά από χορήγηση ανασυνδυσασμένης PAF-AH [15,16,140]. Επίσης, γονιδιακή θεραπεία με τη χρήση ανασυνδυσασμένης PAF-AH έχει δοκιμασθεί σε ποντίκια με άλλοτε άλλα αποτελέσματα [15,16,140].

### Κλινικές μελέτες και PAF-AH:

Στα πλαίσια διαφόρων τυχαιοποιημένων ελεγχόμενων μελετών (RCT) εξετάσθηκε η συσχέτιση της PAF-AH του πλάσματος με την εμφάνιση καρδιαγγειακών νοσημάτων (στεφανιαία νόσος, έμφραγμα του μυοκαρδίου, ισχαιμικά αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια), (Πίνακας 3).

- WHS: στα πλαίσια της μελέτης WHS έγινε μία υπομελέτη στην οποία συμμετείχαν 123 γυναίκες που κατά τη διάρκεια της μελέτης νόσησαν από μη θανατηφόρο έμφραγμα του μυοκαρδίου ή πέθαναν από ισχαιμία του μυοκαρδίου ή αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο και 123 υγιή άτομα. Στη μελέτη μετρήθηκαν η μάζα της PAF-AH του πλάσματος και τα επίπεδα της CRP του ορού. Η μελέτη έδειξε ότι η μάζα της PAF-AH του πλάσματος στους ασθενείς ήταν μεγαλύτερη από τη μάζα της PAF-AH του πλάσματος στην ομάδα ελέγχου, όπως επίσης μεγαλύτερη ήταν στις γυναίκες που δεν υποβαλλόταν σε θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης. Όμως στην πολυπαραγοντική ανάλυση, είτε σε όλο τον πληθυσμό της μελέτης είτε στα άτομα που βρίσκονταν σε αγωγή με ορμονική υποκατάσταση, μόνο τα επίπεδα της CRP του ορού και όχι η μάζα της PAF-AH του πλάσματος αποτελούσαν ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση καρδιαγγειακών συμβαμάτων ή αγγειακών εγκεφαλικών επεισοδίων [141].



- WOSCOPS: στα πλαίσια της μελέτης WOSCOPS έγινε μία υπομελέτη στην οποία συμμετείχαν 580 άνδρες που κατά τη διάρκεια της μελέτης νόσησαν από μη θανατηφόρο έμφραγμα του μυοκαρδίου ή είχαν πεθάνει από ισχαιμία του μυοκαρδίου, ή είχαν υποβληθεί σε επέμβαση επαναγγείωσης και 1160 υγιή άτομα. Στη μελέτη μετρήθηκε η μάζα της PAF-AH του πλάσματος. Η μελέτη έδειξε ότι η μάζα της PAF-AH του πλάσματος αποτελούσε ισχυρό προγνωστικό παράγοντα για την εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου όταν συμπεριλήφθηκαν στην πολυπαραγοντική ανάλυση οι κλασσικοί παράγοντες κινδύνου (ηλικία, αρτηριακή πίεση, λιπιδαιμικό προφίλ). Ειδικότερα, για κάθε αύξηση της μάζας της PAF-AH του πλάσματος κατά μία σταθερή απόκλιση (SD) αυξήθηκε ο κίνδυνος για κάποιο καρδιακό σύμβαμα κατά 18% [142].

- ARIC: στα πλαίσια της μελέτης ARIC έγινε μία υπομελέτη στην οποία συμμετείχαν 608 ασθενείς που νόσησαν κατά τη διάρκεια της μελέτης από στεφανιαία νόσο και 740 υγιή άτομα. Το 42% των ασθενών με στεφανιαία νόσο είχε εμφανίσει μη θανατηφόρο έμφραγμα του μυοκαρδίου, το 39% είχε υποστεί επέμβαση επαναγγείωσης και το 10% είχε πεθάνει από καρδιακά αίτια. Στη μελέτη μετρήθηκε η μάζα της PAF-AH του πλάσματος. Η μελέτη έδειξε ότι η μάζα της PAF-AH του πλάσματος και τα επίπεδα της CRP αποτελούσαν ισχυρούς προγνωστικούς παράγοντες για την εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου. Όταν όμως και οι κλασσικοί παράγοντες κινδύνου (ηλικία, φύλο, αρτηριακή πίεση, λιπιδαιμικό προφίλ, κάπνισμα, διαβήτης) συμπεριλήφθηκαν στην πολυπαραγοντική ανάλυση, τότε μόνο η μάζα της PAF-AH του πλάσματος συσχετιζόταν με την αύξηση του καρδιαγγειακού κινδύνου (διπλάσιος κίνδυνος στα άτομα με τη μεγαλύτερη σε σύγκριση με τα άτομα με τη μικρότερη μάζα της PAF-AH), αλλά μόνο για τους ασθενείς με LDL-C < 130 mg/dL [143].



- MONICA: στα πλαίσια της μελέτης MONICA έγινε μία υπομελέτη στην οποία συμμετείχαν 97 άνδρες που κατά τη διάρκεια της μελέτης νόσησαν από μη θανατηφόρο έμφραγμα του μυοκαρδίου ή πέθαναν από ισχαιμία του μυοκαρδίου και 837 υγιή άτομα. Στη μελέτη μετρήθηκε η μάζα της PAF-AH του πλάσματος και τα επίπεδα της CRP του ορού. Η μελέτη έδειξε ότι η μάζα της PAF-AH του πλάσματος και τα επίπεδα της CRP αποτελούσαν ισχυρούς προγνωστικούς παράγοντες για την εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου όταν συμπεριλήφθηκαν στην πολυπαραγοντική ανάλυση οι άλλοι παράγοντες κινδύνου (ηλικία, συστολική αρτηριακή πίεση, λιπιδαιμικό προφίλ, κάπνισμα, διαβήτης, αλκοόλ, BMI, σωματική άσκηση, CRP). Ειδικότερα, η αύξηση της μάζας της PAF-AH κατά 1 σταθερή απόκλιση (SD) αύξησε κατά 21% τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιακού επεισοδίου, ανεξάρτητα από τα επίπεδα της CRP [144].
- ROTTERDAM: στα πλαίσια της μελέτης ROTTERDAM έγινε μία υπομελέτη στην οποία συμμετείχαν 308 άνδρες και γυναίκες που κατά τη διάρκεια της μελέτης νόσησαν από στεφανιαία νόσο, μη θανατηφόρο έμφραγμα του μυοκαρδίου ή πέθαναν από ισχαιμία του μυοκαρδίου, 110 άνδρες και γυναίκες με ισχαιμικό αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο και 1820 υγιή άτομα. Στη μελέτη μετρήθηκε η ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος. Η μελέτη έδειξε ότι η ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος ήταν ισχυρός προγνωστικός παράγοντας για την εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου και ισχαιμικού αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου όταν συμπεριλήφθηκαν στην πολυπαραγοντική ανάλυση οι άλλοι παράγοντες κινδύνου (ηλικία, φύλο, συστολική αρτηριακή πίεση, λιπιδαιμικό προφίλ, κάπνισμα, διαβήτης, αλκοόλ, BMI, CRP, υπολιπιδιμικά φάρμακα, αριθμός λευκών αιμοσφαιρίων). Ειδικότερα, η αύξηση της μάζας της PAF-AH κατά 1 σταθερή απόκλιση (SD) αύξησε



κατά 20% τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιακού επεισοδίου και κατά 24% τον κίνδυνο εμφάνισης ισχαιμικού αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου [145].

- CARDIA: στα πλαίσια της μελέτης CARDIA έγινε μία υπομελέτη στην οποία συμμετείχαν 266 άνδρες και γυναίκες που κατά τη διάρκεια της μελέτης εμφάνισαν ασβεστώσεις στα στεφανιαία αγγεία κατά την εξέταση με αξονική τομογραφία και 266 υγιή άτομα. Στη μελέτη μετρήθηκε η μάζα και η ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος. Η μελέτη έδειξε ότι η μάζα της PAF-AH του πλάσματος αποτελούσε ισχυρό προγνωστικό παράγοντα για την εμφάνιση ασβεστώσεων στα στεφανιαία αγγεία όταν συμπεριλήφθηκαν στην πολυπαραγοντική ανάλυση οι άλλοι παράγοντες κινδύνου (ηλικία, φύλο, αρτηριακή πίεση, λιπιδαιμικό προφίλ, κάπνισμα, διαβήτης, αλκοόλ, BMI, περίμετρος μέσης, CRP). Ειδικότερα, η αύξηση της μάζας της PAF-AH (και όχι της ενεργότητας) κατά 1 σταθερή απόκλιση (SD) αύξησε κατά 28% τον κίνδυνο εμφάνισης ασβεστώσεων στα στεφανιαία αγγεία [146].
- EPIC-Norfolk: στα πλαίσια της μελέτης EPIC-Norfolk έγινε μία υπομελέτη στην οποία συμμετείχαν 1105 άνδρες και γυναίκες που κατά τη διάρκεια της μελέτης νόσησαν από στεφανιαία νόσο, μη θανατηφόρο έμφραγμα του μυοκαρδίου ή πέθαναν από ισχαιμία του μυοκαρδίου και 2209 υγιή άτομα. Στη μελέτη μετρήθηκε η μάζα της PAF-AH του πλάσματος. Η μελέτη έδειξε ότι η μάζα της PAF-AH του πλάσματος αποτελούσε ισχυρό προγνωστικό παράγοντα για την εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου όταν συμπεριλήφθηκαν στην πολυπαραγοντική ανάλυση οι άλλοι παράγοντες κινδύνου (ηλικία, συστολική αρτηριακή πίεση, λιπιδαιμικό προφίλ, κάπνισμα, διαβήτης, BMI, CRP). Ειδικότερα, τα άτομα με τη μεγαλύτερη μάζα της PAF-AH είχαν 34% μεγαλύτερη πιθανότητα να εμφανίσουν κάποιο καρδιακό επεισόδιο σε σύγκριση με τα άτομα με τη μικρότερη μάζα της PAF-AH (σύγκριση 1<sup>ου</sup> - 4<sup>ου</sup> τεταρτημορίου) [147].



- The Ludwigshafen risk and cardiovascular health study: στη μελέτη Ludwigshafen συμμετείχαν 2454 άνδρες και γυναίκες με αγγειογραφικά διαπιστωμένη στεφανιαία νόσο και 694 υγιή άτομα. Στη μελέτη μετρήθηκε η ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος. Η μελέτη έδειξε ότι η ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος αποτελούσε ισχυρό προγνωστικό παράγοντα για την εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου όταν συμπεριλήφθηκαν στην πολυπαραγοντική ανάλυση οι άλλοι παράγοντες κινδύνου (ηλικία, συστολική αρτηριακή πίεση, λιπιδαιμικό προφίλ, κάπνισμα, διαβήτης, BMI, CRP, αριθμός λευκών αιμοσφαιρίων, υπολιπιδαιμικά φάρμακα, ασπιρίνη, β-αποκλειστές, διγοξίνη). Ειδικότερα, τα άτομα με τη μεγαλύτερη μάζα της PAF-AH είχαν 85% μεγαλύτερη πιθανότητα να εμφανίσουν κάποιο καρδιακό επεισόδιο σε σύγκριση με τα άτομα με τη μικρότερη μάζα της PAF-AH (σύγκριση 1<sup>ου</sup> - 4<sup>ου</sup> τεταρτημορίου) [148].
- Brilakis et al: στη μελέτη αυτή συμμετείχαν 61 άνδρες και γυναίκες με αγγειογραφικά διαπιστωμένη στεφανιαία νόσο και 405 υγιή άτομα. Στη μελέτη μετρήθηκε η μάζα της PAF-AH του πλάσματος. Η μελέτη έδειξε ότι η μάζα της PAF-AH του πλάσματος αποτελούσε ισχυρό προγνωστικό παράγοντα για την εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου όταν συμπεριλήφθηκαν στην πολυπαραγοντική ανάλυση οι άλλοι παράγοντες κινδύνου (ηλικία, φύλο, αρτηριακή πίεση, λιπιδαιμικό προφίλ, κάπνισμα, διαβήτης, BMI, CRP). Ειδικότερα, η αύξηση της μάζας της PAF-AH κατά 1 σταθερή απόκλιση (SD) αύξησε κατά 28% τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών επεισοδίων [149].
- ARIC-stroke: στη μελέτη αυτή συμμετείχαν 223 ασθενείς με ισχαιμικό αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο και 766 υγιή άτομα. Η μελέτη έδειξε ότι η μάζα της PAF-AH του πλάσματος αποτελούσε ισχυρό προγνωστικό παράγοντα για την εμφάνιση ισχαιμικού αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου όταν συμπεριλήφθηκαν στην



πολυπαραγοντική ανάλυση οι άλλοι παράγοντες κινδύνου (συμπεριλαμβανομένης της CRP). Ειδικότερα, τα άτομα με τη μεγαλύτερη τιμή της PAF-AH είχαν 104% μεγαλύτερη πιθανότητα να εμφανίσουν κάποιο ισχαιμικό αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο σε σύγκριση με τα άτομα με τη μικρότερη τιμή της PAF-AH (σύγκριση 1<sup>ου</sup> - 3<sup>ου</sup> τριτημορίου) [150].

- Khuseynova et al: στη μελέτη αυτή συμμετείχαν 312 ασθενείς με αγγειογραφικά-διαπιστωμένη στεφανιαία νόσο και 479 υγιή άτομα. Η μελέτη έδειξε ότι η μάζα της PAF-AH του πλάσματος αποτελούσε ισχυρό προγνωστικό παράγοντα για την εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου όταν συμπεριλήφθηκαν στην πολυπαραγοντική ανάλυση οι άλλοι παράγοντες κινδύνου. Ειδικότερα, τα άτομα με τη μεγαλύτερη τιμή της PAF-AH είχαν 84% μεγαλύτερη πιθανότητα να εμφανίσουν κάποιο καρδιακό επεισόδιο σε σύγκριση με τα άτομα με τη μικρότερη τιμή της PAF-AH (σύγκριση 1<sup>ου</sup> - 4<sup>ου</sup> τεταρτημορίου) [151].



Πίνακας 3: Κλινικές μελέτες και PAF-AH.

Μελέτη	Καταληκτικά σημεία	Διάρκεια (χρόνια)	Ασθενείς	Υγιείς	Κίνδυνος ανά 1SD
WOSCOPS	ΣΝ	5	580	1160	1.18
ARIC	ΣΝ	6	608	740	1.15*
WHS	ΣΝ-ΑΕΕ		123	123	1.17*
MONICA	ΣΝ	14	97	837	1.21
ROTTERDAM	ΣΝ	7	308	1820	1.20
	ΑΕΕ	6	110		1.24
CARDIA	Ασβεστώσεις στην αξονική τομογραφία		266	266	1.28
EPIC	ΣΝ	6	1105	2209	1.34 <sup>&amp;</sup>
Ludwigshafen	ΣΝ		2454	694	1.25
Brilakis et al	ΣΝ-ΑΕΕ	4	61	405	1.28
ARIC-stroke	ΑΕΕ	6	223	766	2.04 <sup>&amp;&amp;</sup>
Khuseynova et al	ΣΝ		312	479	1.84 <sup>&amp;</sup>

ΣΝ: στεφανιαία νόσος, ΑΕΕ: αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο

SD: σταθερά απόκλιση

<sup>&</sup>: σύγκριση 1<sup>ου</sup> - 4<sup>ου</sup> τεταρτημορίου, <sup>&&</sup>: σύγκριση 1<sup>ου</sup> - 3<sup>ου</sup> τριτημορίου

\*: μη στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα





Συμπερασματικά, όλες οι μελέτες έδειξαν ότι οι ασθενείς είχαν υψηλότερα επίπεδα PAF-AH στο πλάσμα συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου, ενώ με την εξαίρεση της μελέτης WHS (και της ARIC για τα άτομα με LDL-C > 130 mg/dL), η μάζα/ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος αποτελεί ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση καρδιαγγειακών συμβαμάτων (στεφανιαίας νόσου ή/και ισχαιμικού αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου). Έτσι λοιπόν, με βάση τα αποτελέσματα των μεγάλων κλινικών μελετών, φαίνεται ότι η PAF-AH προάγει την αθηρωματική διαδικασία και θα μπορούσε να αποτελέσει ένα χρήσιμο προγνωστικό δείκτη για την εμφάνιση της καρδιαγγειακής νόσου σε συνδυασμό με τον προσδιορισμό των επιπέδων της CRP του ορού, αφού τα επίπεδα της PAF-AH δεν συσχετίζονται με τα επίπεδα της CRP του ορού.



HDL-PAF-AHΔράση της HDL-PAF-AH:

Όπως αναφέραμε προηγουμένως, η PAF-AH συνδέεται στο πλάσμα κατά 80% με τις LDL και κατά 20% με τις HDL. Η επιλεκτική σύνδεση της PAF-AH με τις LDL συγκριτικά με τις HDL πιθανά οφείλεται στο βαθμό γλυκοζυλίωσης του ενζύμου, δεδομένου ότι το γλυκοζυλιωμένο ένζυμο συνδέεται αποκλειστικά με τις λιποπρωτεΐνες που περιέχουν απολιποπρωτεΐνη Β και όχι με τις HDL [152].

Η HDL-PAF-AH έχει αντιαθηρογόνες ιδιότητες και προστατεύει από την εμφάνιση της καρδιαγγειακής νόσου, αφού συμμετέχει στις αντιοξειδωτικές ιδιότητες των HDL (προστασία από την οξείδωση των LDL). Η αντιαθηρογόνος δράση της HDL-PAF-AH οφείλεται σε πολύ μεγάλο βαθμό στην ιδιότητά της να υδρολύει τον PAF και τα οξειδωμένα φωσφολιπίδια. Παράλληλα, η HDL-PAF-AH εμποδίζει την προσκόλληση των μονοκυττάρων στο αγγειακό ενδοθήλιο κατά την οξείδωση των LDL (δηλαδή αναστέλλει τη βιολογική δραστηριότητα της ήδη οξειδωμένης LDL) [133,134]. Επιπρόσθετα, πειράματα σε διαγονιδιακά ποντίκια με γενετική προδιάθεση για την εμφάνιση αθηρωμάτωσης έδειξαν ότι η υπερέκφραση του γονιδίου της PAF-AH οδηγεί σε αύξηση της ενεργότητας του ενζύμου των HDL, η οποία συνοδεύεται από μείωση της προσκόλλησης των μακροφάγων στο αγγειακό τοίχωμα, καθώς και από σημαντική μείωση του αριθμού των αθηρωματικών βλαβών [153,154].

Υπάρχει έντονος προβληματισμός κατά πόσο η PAF-AH που συνδέεται με την HDL είναι το μόνο ένζυμο με δράση HDL-PAF-AH. Ιδιότητες PAF-AH στις HDL εκφράζουν τόσο η PON1 (ένα ένζυμο που βρίσκεται αποκλειστικά στις HDL και θεωρείται από πολλούς ότι είναι το υπεύθυνο ένζυμο που προσδίδει PAF-AH ιδιότητα στις HDL), όσο και η λεκιθίνη-χοληστερόλη ακετυλ-τρανσφεράση (LCAT, ένα ένζυμο που αλληλεπιδρά



με τις HDL και είναι υπεύθυνο για το σχηματισμό των εστέρων χοληστερόλης στο πλάσμα) [15,16,155]. Άρα η ενεργότητα της PAF-AH που συσχετίζεται με τις HDL (HDL-PAF-AH) πιθανά να αντιπροσωπεύει το σύνολο της καταλυτικής δράσης της PAF-AH, της PON1 και της LCAT, αντίθετα με την PAF-AH που συσχετίζεται με τις LDL που εκπροσωπείται αποκλειστικά από την PAF-AH. Δυστυχώς έως σήμερα δεν είναι δυνατό να διαχωρίσουμε τη συνεισφορά καθενός από τα 3 ένζυμα με ιδιότητες HDL-PAF-AH (PON1, LCAT και HDL-PAF-AH) στη διάσπαση των οξειδωμένων φωσφολιπιδίων τόσο σε *in vivo* συνθήκες όσο και στα *in vitro* πειράματα στα οποία χρησιμοποιείται πλήρης απομονωμένη HDL.

Πρόσφατα διατυπώθηκε η άποψη ότι τα HDL σωματίδια δεν περιέχουν πραγματική PAF-AH και ότι η ικανότητά τους να υδρολύουν τον PAF οφείλεται αποκλειστικά στην PON1. Η θεώρηση αυτή υποστηρίζεται έμμεσα και από δεδομένα σύμφωνα με τα οποία οι πολυμορφισμοί της PON1 επηρεάζουν σημαντικά την PAF-AH ικανότητα των HDL [156]. Σε πλήρη αντιδιαστολή με τα παραπάνω δεδομένα βρίσκεται η πρόσφατη μελέτη του Marathe και των συνεργατών του σύμφωνα με την οποία η PON1 δεν έχει ιδιότητες ακετυλο-υδρολάσης του PAF και ότι η ικανότητά της να υδρολύει αυτό το φλεγμονώδη διαβιβαστή οφείλεται σε πειραματικό σφάλμα και συγκεκριμένα στην παρουσία προσμίξεων PAF-AH κατά τη διάρκεια της πειραματικής απομόνωσης της PON1 [125]. Υπέρ αυτής της άποψης συνηγορεί το γεγονός ότι διαγονιδιακά ποντίκια στα οποία δεν εκφράζεται το γονίδιο της PON1 εμφανίζουν φυσιολογική ενεργότητα PAF-AH στις HDL [157]. Η πιο πειστική όμως απόδειξη της παραπάνω θεωρίας προέρχεται από Ιάπωνες ασθενείς ομόζυγους για τη μετάλλαξη Val279Phe, η οποία προκαλεί πλήρη εξάλειψη της ενεργότητας της PAF-AH τόσο στο πλάσμα όσο και στις HDL. Συγκεκριμένα, τα HDL σωματίδια αυτών των ασθενών, αν και έχουν φυσιολογική



ενεργότητα της PON1 δεν έχουν καμία υδρολυτική δράση τόσο κατά του PAF όσο και κατά των οξειδωμένων φωσφολιπιδίων [125].

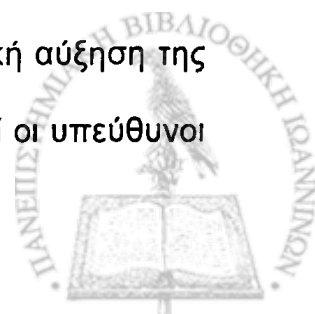
Οι διαφορές στη βιολογική συμπεριφορά της PAF-AH των HDL σε σύγκριση με την PAF-AH των λιποπρωτεϊνών που περιέχουν απολιποπρωτεΐνη Β (αν υποτεθεί ότι το τελευταίο διαδραματίζει ευοδωτικό ρόλο στη διαδικασία της αθηρωμάτωσης) δεν μπορούν να εξηγηθούν με ευκολία. Αν και οι διαφορές στο μικρο-περιβάλλον των σωματιδίων μπορούν θεωρητικά να ευθύνονται για αντίστοιχες διαφορές στις ιδιότητες του ενζύμου, πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι η σύνδεση της PAF-AH με τις λιποπρωτεΐνες δεν μεταβάλλει σημαντικά τις ιδιότητές της. Ωστόσο, η παρουσία στα HDL σωματίδια δύο άλλων ενζύμων (PON1 και LCAT) που μπορεί να συμμετέχουν στο μεταβολισμό των οξειδωμένων φωσφολιπιδίων ή των προϊόντων της διάσπασης τους από την PAF-AH, καθώς και η δυνατότητα απομάκρυνσης των τοξικών αυτών προϊόντων από τις HDL διαμέσου της διάχυσης τους στο πλάσμα ή της σύνδεσής τους με μόρια, όπως η αλβουμίνη, μπορεί να συμβάλλουν σημαντικά στην τελική διαμόρφωση της αντιαθηρογόνου δράσης της HDL-PAF-AH.

#### **Κυτταρική πηγή προέλευσης της HDL-PAF-AH:**

- Προέλευση: η κυτταρική πηγή προέλευσης της PAF-AH των HDL δεν είναι γνωστή, πιθανολογείται όμως ότι τα μακροφάγα διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην παραγωγή του ενζύμου [15,16].

#### **Παράγοντες που επηρεάζουν την ενεργότητα της HDL-PAF-AH:**

- Απο AI – φλεγμονή: πρόσφατες μελέτες σε διαγονιδιακά ποντίκια έδειξαν ότι η υπερέκφραση του γονιδίου της απολιποπρωτεΐνης AI προκαλεί σημαντική αύξηση της ενεργότητας του ενζύμου των HDL, χωρίς ωστόσο να έχουν επισημανθεί οι υπεύθυνοι



μηχανισμοί για αυτό το φαινόμενο [158]. Αντίθετα, κατά τη διάρκεια των αντιδράσεων οξειδίας φάσης (στην οποία έχει αναφερθεί ότι τα αντιαθηρογόνα HDL σωματίδια μετατρέπονται σε σωματίδια που ευοδώνουν την αθηρωματική διαδικασία), παρατηρείται σημαντική μείωση της ενεργότητας της HDL-PAF-AH που συνοδεύεται από αντίστοιχη μείωση της ικανότητας των HDL να προστατεύουν τις LDL από την οξείδωση [159].

- Φάρμακα: η χορήγηση φενοφιμπράτης σε ασθενείς με δυσλιπιδαιμία τύπου IIB και IV είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της ενεργότητας της HDL-PAF-AH (που πριν τη χορήγηση της αγωγής ήταν ελαττωμένη και στους 2 τύπους δυσλιπιδαιμίας συγκριτικά με τα υγιή άτομα). Η αύξηση αυτή οφείλεται στην αύξηση της ενζυμικής ενεργότητας που συσχετίζεται με το υποκλάσμα HDL<sub>3c</sub> (VHDL1) [134]. Η ευεργετική αυτή επίδραση της φενοφιμπράτης στην ενεργότητα της HDL-PAF-AH δεν οφείλεται στην αύξηση της έκκρισής της από τα μακροφάγα, αλλά πιθανά στη μεταφορά του ενζύμου από τις πλούσιες σε τριγλυκερίδια apo B λιποπρωτεΐνες στις HDL. Το γεγονός αυτό οφείλεται πιθανά στην αύξηση της δραστικότητας της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης από τη φενοφιμπράτη με αποτέλεσμα την αυξημένη λιπόλυση [134].

Αντίθετα, η χορήγηση ατορβαστατίνης ή λοβαστατίνης σε ασθενείς με πρωτοπαθή υπερλιπιδαιμία (IIA) και σε ασθενείς με μικτή υπερλιπιδαιμία (IIB) δεν επηρέασε την ενεργότητα της HDL-PAF-AH [133,136,137].

Τέλος, η αντιαθηρογόνος δράση της HDL-PAF-AH είναι ανεξάρτητη από τη συγκέντρωση της HDL-C [133,134], ενώ έχει αναφερθεί ότι ο λόγος HDL-PAF-AH προς LDL-C σε ασθενείς με πρωτοπαθή υπερχοληστερολαιμία είναι ελαττωμένος (ανάλογα με το βαθμό της υπερχοληστερολαιμίας) [15,16].



## PON1

### Η προστατευτική δράση της HDL:

Με βάση τις επιδημιολογικές μελέτες τα χαμηλά επίπεδα της HDL-C αποτελούν ένα από τους παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση της καρδιαγγειακής νόσου [160-163]. Για κάθε συγκέντρωση της LDL-C, η συγκέντρωση της HDL-C συσχετίζεται κατά τρόπο αντίστροφο με την εμφάνιση στεφανιαίας νόσου και αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου [160-162,164-166]. Εξάλλου, η χαμηλή HDL-C αποτελεί δείκτη της παρουσίας μικρών πυκνών LDL σωματιδίων στην κυκλοφορία που χαρακτηρίζονται από αυξημένη αθηρογόνο δραστηριότητα [167]. Η προστατευτική επίδραση της HDL-C στην εμφάνιση των καρδιαγγειακών συμβαμάτων εξηγείται από το γεγονός ότι η HDL-C εμπλέκεται στο μηχανισμό της ανάστροφης μεταφοράς της χοληστερόλης από τους περιφερειακούς ιστούς προς το ήπαρ, αλλά και από την προστασία που παρέχει η HDL στην οξειδωση της LDL και των κυτταρικών μεμβρανών (αντιοξειδωτική δράση της HDL) [160-162,168,169]. Ειδικότερα, η οξειδωμένη LDL προσλαμβάνεται διαμέσου των υποδοχέων-καθαριστών (scavenger receptors) SR-A και CD 36 από τα μακροφάγα που με τη σειρά τους μετατρέπονται σε αφρώδη κύτταρα, με αποτέλεσμα τη δημιουργία αθηρωματικών βλαβών [169]. Η αντιοξειδωτική δράση της HDL οφείλεται σε μία ομάδα ενζύμων που είναι συνδεδεμένα με τα σωματίδια της HDL, μεταξύ των οποίων κυρίαρχη θέση έχει η PON1 (τα άλλα ένζυμα είναι η HDL-PAF-AH και η LCAT) [160-162,168,169].

Συνοπτικά, τα ένζυμα αυτά είναι υπεύθυνα για την αποδόμηση των φωσφολιπιδίων που δημιουργούνται κατά την οξειδωση της LDL, αλλά επίσης προστατεύουν από την οξειδωση και την HDL, με αποτέλεσμα η HDL να διατηρεί τις αθηροπροστατευτικές της ιδιότητες [170,171].



### PON1 - μηχανισμός δράσης: (Εικόνα 6)

Η PON1 ανήκει σε μία οικογένεια ενζύμων που έχει τρία γνωστά μέλη, την PON1, την PON2 και την PON3. Από την οικογένεια της PON, η PON1 είναι το μόνο ένζυμο που έχει μελετηθεί επαρκώς, ενώ ελάχιστα είναι γνωστά για τα υπόλοιπα ένζυμα αυτής της οικογένειας.

Η PON1 έχει μοριακό βάρος 43 Kda (354 αμινοξέα), παράγεται κυρίως από το ήπαρ και στον ορό συνδέεται αποκλειστικά με τις HDL και μάλιστα με το πυκνότερο υποκλάσμα HDL<sub>3</sub> [160,161,168,169,172,173]. Η δράση της PON1 είναι να υδρολύει οργανοφωσφορικά υποστρώματα και ειδικότερα τα υπεροξειδία των φωσφολιπιδίων και τα υπεροξειδία των εστέρων του λινολεϊκού και του αραχιδονικού οξέως, αποτελώντας έτσι τον κύριο μηχανισμό άμυνας έναντι των οργανοφωσφορικών ενώσεων που εισέρχονται στην κυκλοφορία [160-162,168,169]. Το παραοξόν (paraoxon) που είναι ο μεταβολίτης του εντομοκτόνου παραθείου είναι επίσης ένας οργανοφωσφορικός εστέρας που υδρολύεται από την PON1, χάριν του οποίου η PON1 πήρε το όνομά της. Η ενεργότητα της PON1 συνήθως εκτιμάται τόσο από τη δυνατότητά της να υδρολύει οργανοφωσφορικά υποστρώματα (π.χ. παραοxon, δηλαδή δράση παραοξονάσης) όσο και από τη δυνατότητά της να καταβολίζει αρωματικούς εστέρες (π.χ. φαινυλοξικό -phenyl acetate-, δηλαδή δράση αρυλ-εστεράσης) [160-162,168]. Με βάση αυτό το μηχανισμό η PON1 επιτρέπει στις HDL να μεταβολίζουν τα υπεροξειδία των λιπιδίων (που δρουν ως ενεργοποιητές των μονοκυττάρων στο ενδοθήλιο και προάγουν την αθηρωματική διαδικασία), με αποτέλεσμα να εμποδίζεται η συσσώρευσή τους στις LDL [160-162,169,173-175]. Η όλη διαδικασία έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία λυσοφωσφολιπιδίων, εστεροποιημένης αλδεϋδης ή κετόνης. Οι ουσίες αυτές, αν και χαρακτηρίζονται από



αθηρογόνες ιδιότητες, τις χάνουν όταν η όλη διαδικασία λαμβάνει μέρος στο περιβάλλον των HDL [162,169].

Ανάμεσα στα λιπίδια των LDL, αυτά που είναι πιο ευάλωτα στην οξείδωση είναι τα πολυακόρεστα φωσφολιπίδια, όπως η φωσφατιδυλοχολίνη με μία πολυακόρεστη ακετυλ-ομάδα στη θέση Sn2, γεγονός που εμπλέκει τη δράση της PON1 ως PAF-AH [160,161]. Είναι χαρακτηριστικό ότι η PON1 αποδείχθηκε πολύ περισσότερο αποτελεσματική από την apo A1 και την LCAT στην αποτροπή της οξείδωσης της LDL, αν και η προσθήκη των 2 τελευταίων ενίσχυσε ελάχιστα τη δράση της PON1 [161,176]. Η PON1 επιταχύνει τον καταβολισμό όχι μόνο των υπεροξειδίων των φωσφολιπιδίων, αλλά και του PAF [155,160,174,176,177]. Μάλιστα είναι πολύ πιθανό ότι η PAF-AH δράση των HDL, αντίθετα από αυτή των LDL, να οφείλεται στην PON1 και όχι σε ένα ξεχωριστό ένζυμο [161,168,173]. Αυτό φάνηκε από πειράματα στα οποία ο PAF υδρολύθηκε αποκλειστικά από την PON1 παρά τη χρήση ενός εκλεκτικού αναστολέα της PAF-AH, του SB-222657. Επίσης, σε ποντίκια με εξάλειψη του γονιδίου (knockout mice) που εκφράζει την PON1, η HDL απέτυχε να αποτρέψει την οξείδωση της LDL παρά την ύπαρξη φυσιολογικής ενεργότητας της PAF-AH [155,157]. Η ανάγκη του να υπάρχει ένα αντι-οξειδωτικό σύστημα στην HDL δικαιολογείται από το γεγονός ότι το ένζυμο LCAT (βρίσκεται στην HDL) δημιουργεί σημαντικές ποσότητες λυσο-φωσφατιδυλοχολίνης (lyso-PC). Όμως, η λυσο-φωσφατιδυλοχολίνη έχει τοξική δράση στην LDL, ενώ αντίθετα δεν προκαλεί βλάβες στην HDL [161,168,169]. Επιπρόσθετα, η HDL βρίσκεται σε όλους του ιστούς του σώματος (αντίθετα από την LDL), ενώ είναι η μοναδική λιποπρωτεΐνη στο κεντρικό νευρικό σύστημα. Με αυτό τον τρόπο η HDL με την PON1 προστατεύει όλες τις κυτταρικές μεμβράνες από την τοξική επίδραση των υπεροξειδωμένων λιπιδίων [160,161,168].

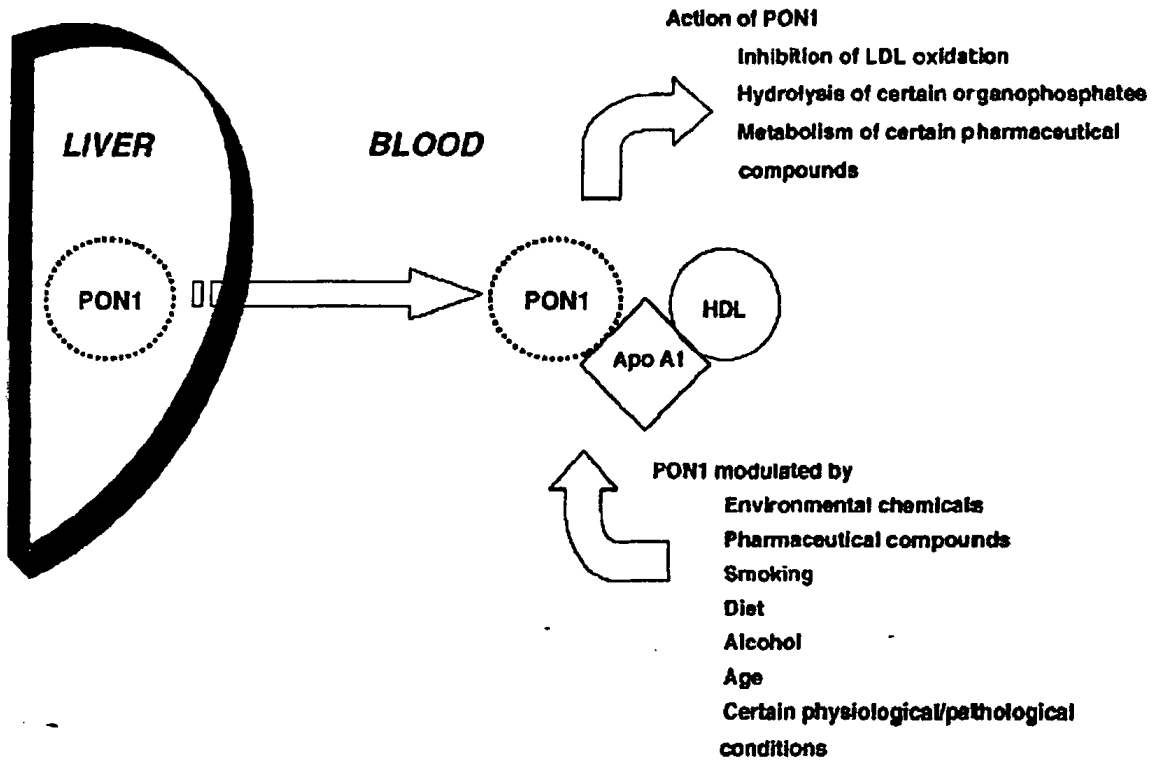




Με βάση αυτή τη θεωρία, η προστατευτική δράση της HDL στην οξείδωση της LDL οφείλεται στην ομοιότητα της LDL με τις κυτταρικές μεμβράνες, αφού είναι απίθανο με βάση τη θεωρία της εξέλιξης η δράση της HDL να εξαντλείται στην προστασία από την αθηρωματική διαδικασία, μία νοσολογική οντότητα μόλις του τελευταίου αιώνα [178,179]. Η αντι-οξειδωτική δράση της HDL οφείλεται κατά κύριο λόγο στην PON1, ενώ από πειράματα σε πειραματόζωα έχει αποδειχθεί ότι η HDL χάνει την αντι-οξειδωτική της δράση όταν συνυπάρχουν αναστολείς της PON1 [168].

Συνοψίζοντας τα δεδομένα σχετικά με την αντι-οξειδωτική δράση της PON1, παρατηρούμε ότι αυτή προκύπτει αφενός από τη παρεμπόδιση της δημιουργίας νέας οξειδωμένης LDL και από την υδρόλυση των οξειδωμένων λιπιδίων στην ήδη υπάρχουσα οξειδωμένη LDL, αφετέρου από την υδρόλυση των οξειδωμένων λιπιδίων σε διάφορα κύτταρα και ιδιαίτερα στα μακροφάγα του αρτηριακού τοιχώματος [169]. Τέλος, έχει αναφερθεί ότι η PON1 μειώνει τα επίπεδα της ομοκυστεΐνης, που αποτελεί επιπρόσθετο παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση καρδιαγγειακών συμβαμάτων [173].





Εικόνα 6: Βιολογικές δράσεις και ρύθμιση της ενεργότητας της PON1.

### Ενεργότητα της PON1 - γενετικοί παράγοντες:

Η ποσότητα της PON1 εξαρτάται τόσο από γενετικούς, όσο και από εξωγενείς (περιβαλλοντικούς) παράγοντες [160,168,169,173]. Το υπεύθυνο γονίδιο για την PON1 βρίσκεται στο χρωμόσωμα 7 [160,161,168,169].

Οι δύο σημαντικότεροι πολυμορφισμοί της PON1 είναι στη θέση 55 (μεθειονίνη/λευκίνη -M/L) και στη θέση 192 (αργινίνη/γλουταμίνη -R/Q) [161,168,169,173]. Η υδρολυτική δράση της PON1 έναντι του παραοξον, μιας από τις ουσίες που χρησιμεύουν ως υπόστρωμα της PON1, είναι μεγαλύτερη στους πολυμορφισμούς 192 RR και 55 LL και μικρότερη στους 192 QQ και 55 MM, ενώ οι ετεροζυγώτες εμφανίζουν ενδιάμεση δράση [180,181].

Όμως, με την αλλαγή του υποστρώματος διαφοροποιείται η σχετική αποτελεσματικότητα των 2 ισομορφών της PON1. Έτσι, η ικανότητα της PON1 να εμποδίζει την οξείδωση της LDL και συγκεκριμένα να εμποδίζει την υδρόλυση των υπεροξειδίων των λιπιδίων είναι αντίστροφη της δράσης που έχει έναντι του παραοξον ως υπόστρωμα [169,182]. Αυτό συμβαίνει γιατί η δράση της PON1 ως αρυλ-εστεράση ή παραοξονάση είναι ανεξάρτητη από την ικανότητα της PON1 να εμποδίζει την οξείδωση της LDL, αφού οι δύο αυτές δράσεις δεν μοιράζονται την ίδια ενεργό θέση στην PON1 [169]. Έτσι, οι πολυμορφισμοί 192 QQ και 55 MM παρέχουν τη μεγαλύτερη προστατευτική δράση έναντι της οξείδωσης της LDL σε σύγκριση με τους πολυμορφισμούς 192 RR και 55 LL [175,183,184].

Η σημασία αυτών των πολυμορφισμών στην εμφάνιση της καρδιαγγειακής νόσου μελετήθηκε σε πρόσφατη μετα-ανάλυση στην οποία συμμετείχαν 11212 ασθενείς με στεφανιαία νόσο και 12786 υγιή άτομα (ομάδα ελέγχου). Με βάση τα αποτελέσματα ο σχετικός κίνδυνος ανά αλληλίο του πολυμορφισμού R192 για την εμφάνιση στεφανιαίας νόσου ήταν 1.12. Όταν όμως αναλύθηκαν οι 5 μόνο μεγαλύτερες μελέτες



που υπόκεινται λιγότερο σε σφάλματα δημοσίευσης (publication bias), ο σχετικός κίνδυνος ήταν μόλις 1.05 (όχι στατιστικά σημαντικός). Επιπρόσθετα, δεν υπήρχε συσχέτιση του πολυμορφισμού L55M (και του T-107C) με την εμφάνιση της στεφανιαίας νόσου, με αποτέλεσμα να αμφισβητείται η συσχέτιση του γονότυπου της PON1 με την εμφάνιση των καρδιαγγειακών συμβαμάτων [185]. Η απουσία συσχέτισης των πολυμορφισμών της PON1 με την εμφάνιση των καρδιαγγειακών συμβαμάτων επιβεβαιώθηκε και σε πρόσφατη μελέτη με παράλληλη μετα-ανάλυση που αφορούσε μόνο γυναίκες [186].

Ο προβληματισμός που υπάρχει αν ο γονότυπος ή η ενεργότητα της PON1 (που καθορίζεται και από εξωγενείς παράγοντες) αποτελεί τον καθοριστικό παράγοντα για την εμφάνιση της στεφανιαίας νόσου επιτείνεται και από το γεγονός ότι σε ταυτόχρονη μελέτη των πολυμορφισμών της PON1 και της ενεργότητας της PON1 βρέθηκε ότι μάλλον η ενεργότητα είναι αυτή που συσχετίζεται με την εμφάνιση της στεφανιαίας νόσου [187].

Επιπρόσθετα, έχουν περιγραφεί αρκετοί πολυμορφισμοί που αφορούν την περιοχή του υποκινητή (promoter region) του γονιδίου της PON1 [161,188]. Συγκεκριμένα, έχουν περιγραφεί πολυμορφισμοί στις θέσεις -107 (T-107C, ο πιο καλά μελετημένος), -108, -126, -160/-162, -824/-832 και -907/-909. Από αυτούς τους πολυμορφισμούς, οι -108, -162 και -909 μπορούν να επηρεάζουν την έκφραση του γονιδίου και επομένως τα επίπεδα της PON1 [173,189]. Τέλος, αξίζει να αναφέρουμε ότι δίπλα από το γονίδιο της PON1 βρίσκεται το γονίδιο που κωδικοποιεί τις υπεύθυνες κινάσες (pyruvate dehydrogenase kinases) για το γλυκαιμικό έλεγχο, γεγονός που θα μπορούσε να εξηγήσει τη συσχέτιση του πολυμορφισμού της PON1 με το γλυκαιμικό έλεγχο [190,191].



### Ενεργότητα της PON1 - περιβαλλοντικοί παράγοντες:

Σε άτομα με το ίδιο γενετικό υπόστρωμα η ενεργότητα της PON1 ποικίλλει σημαντικά (μέχρι και 40πλάσια διακύμανση της ενεργότητας), γεγονός που αποδίδεται σε περιβαλλοντικούς παράγοντες [161,188].

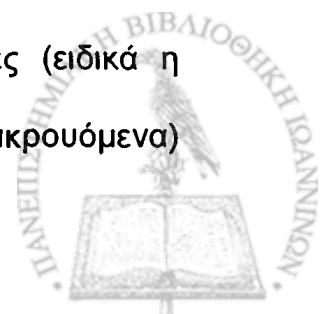
- Λιπίδια: στους περιβαλλοντικούς παράγοντες που επηρεάζουν την ενεργότητα της PON1 συμπεριλαμβάνονται τα επίπεδα της HDL-C και της Apo AI. Βέβαια, η συσχέτιση της PON1 με την HDL-C δεν είναι ισχυρή [173,182]. Σε ακραία παραδείγματα έλλειψης HDL-C, όπως η νόσος Tangier και η νόσος του ματιού του ψαριού, η ενεργότητα της PON1 είναι σημαντικά ελαττωμένη. Αντίθετα, σε άλλες καταστάσεις έλλειψης της HDL-C η PON1 δεν είναι ελαττωμένη, γεγονός που θα μπορούσε να εξηγήσει γιατί σε κάποιες μόνο από τις περιπτώσεις που η HDL-C είναι ελαττωμένη υπάρχει αυξημένη επίπτωση της καρδιαγγειακής νόσου [192-194].

Στους παράγοντες που επηρεάζουν αρνητικά την ενεργότητα της PON1 ανήκουν η υψηλή ολική χοληστερόλη και η αντίσταση στη δράση της ινσουλίνης [173,195,196].

- Δίαιτα: μελέτες σε ποντίκια έδειξαν ότι τα μονοακόρεστα λιπαρά οξέα μπορούν να αυξήσουν την ενεργότητα της PON1, αντίθετα από τα πολυακόρεστα ή τα κεκορεσμένα λιπαρά οξέα [173,197]. Επίσης το αποδομημένο από πολλαπλές χρήσεις μαγειρικό λάδι, όπως και η αθηρογόνος δίαιτα ελαττώνουν την ενεργότητα της PON1 [173,198-200]. Η μικρή κατανάλωση του αλκοόλ και οι πολυφαινόλες που βρίσκονται στο κρασί, το τσάι και τους χυμούς των φρούτων αυξάνουν την ενεργότητα της PON1 [173,201,202]. Αν και οι απόψεις δίστανται, φαίνεται ότι η αντιοξειδωτική δράση της PON1 είναι μάλλον ανεξάρτητη από την παρουσία αντιοξειδωτικών βιταμινών, όπως η βιταμίνη C και E [203-205]. Επίσης το κάπνισμα μειώνει την ενεργότητα της PON1 [173,206].



- Ηλικία: η ηλικία είναι άλλος ένας παράγοντας που επηρεάζει την ενεργότητα της PON1, αφού οι υπερήλικες και οι γυναίκες μετά την εμμηνόπαυση έχουν ελαττωμένη ενεργότητα της PON1 [173,195].
- Τοξική έκθεση: αν και η οξεία έκθεση σε οργανοφωσφορικούς εστέρες προκαλεί ελάττωση της ενεργότητας της PON1, δεν έχει πλήρως διευκρινισθεί η επίδραση τους σε χρόνια βάση [207]. Χαρακτηριστικά, οι βετεράνοι του πολέμου του Κόλπου έχουν ελαττωμένη ενεργότητα της PON1, γεγονός που αποδίδεται στην έκθεσή τους σε χημικές ουσίες όπως είναι τα οργανοφωσφορικά [160,208].
- Φλεγμονή: από πειραματικά δεδομένα είναι γνωστό ότι η αύξηση της φλεγμονώδους διαδικασίας μπορεί να μειώσει την ενεργότητα της PON1 εξαιτίας της μειωμένης ηπατικής σύνθεσης της PON1 που προκαλείται από την απελευθέρωση διαφόρων κυτταροκινών [159,209,210]. Πράγματι, πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι ο TNF- $\alpha$  και η IL-1 $\beta$  καταστέλλουν την έκφραση του γονιδίου της PON1, ενώ η IL-6 έχει αντίθετο αποτέλεσμα [211]. Συνέπεια όλων αυτών είναι ότι σε οξείες φλεγμονώδεις καταστάσεις η ελαττωμένη ενεργότητα της PON1 επάγει την οξείδωση της LDL με αποτέλεσμα την δημιουργία αφρωδών κυττάρων που προδιαθέτουν στη ρήξη της αθηρωματικής πλάκας [160,209,210].
- Φυλετική κατανομή: σημαντικές διαφορές στην ενεργότητα της PON1 έχουν παρατηρηθεί ανάμεσα σε διαφορετικούς πληθυσμούς, με τους μη-Ευρωπαϊκής καταγωγής πληθυσμούς να έχουν αυξημένη ενεργότητα της PON1 σε σύγκριση με τους Ευρωπαίους [160,212]. Το γεγονός αυτό οφείλεται τόσο στη συχνότητα του πολυμορφισμού στη θέση 192 που παρατηρείται συχνότερα στους Ασιάτες και τους Αφρικανούς, όσο και σε διαιτητικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες [160].
- Φάρμακα: από τα υπολιπιδαιμικά φάρμακα κυρίως οι στατίνες (ειδικά η ατορβαστατίνη) και λιγότερο οι φιβράτες (τα δεδομένα είναι αντικρουόμενα)



μπορούν να αυξήσουν την ενεργότητα της PON1, εξηγώντας εν μέρει τις αντιοξειδωτικές (πλειοτρόπες) ιδιότητες αυτών των φαρμάκων [173,213-219].

• Νοσήματα: η ενεργότητα της PON1 σε ασθενείς με εγκατεστημένη στεφανιαία νόσο είναι η μισή σε σύγκριση με υγιή άτομα (controls) [187,220,221]. Μάλιστα, η ελαττωμένη ενεργότητα της PON1 σε αυτούς τους ασθενείς δείχνει να προϋπήρχε του καρδιακού επεισοδίου, αφού ήταν ελαττωμένη από την πρώτη ώρα της έναρξης της στηθάγχης [160,168]. Στη μελέτη Caerphilly Prospective Study (η οποία είναι η μοναδική προοπτική μελέτη για την PON1), η PON1 ήταν ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για την εμφάνιση καρδιαγγειακών συμβαμάτων και κυρίως σε άτομα υψηλού κινδύνου [222].

Εξάλλου, χαμηλή ενεργότητα της PON1 ανεξάρτητα από το γονότυπο έχει αναφερθεί και σε άλλες παθολογικές καταστάσεις που συσχετίζονται με τα καρδιαγγειακά νοσήματα, όπως ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2, η δυσλιπιδαιμία, το μεταβολικό σύνδρομο και η χρόνια νεφρική νόσος [195,223-227]. Στην περίπτωση μάλιστα του σακχαρώδη διαβήτη, η ενεργότητα της PON1 μειώνεται πριν εμφανισθούν οι επιπλοκές από το καρδιαγγειακό σύστημα [191]. Επίσης, η ενεργότητα της PON1 αυξάνεται στο αρτηριακό τοίχωμα παράλληλα με την εξέλιξη των αθηρωματικών βλαβών, αν και είναι άγνωστο αν η αύξηση της ενζυμικής ενεργότητας αντιπροσωπεύει μία προστατευτική αντίδραση ή είναι παράλληλη με την εξέλιξη της αθηρωματικής διαδικασίας [228]. Ωστόσο, δίαιτα πλούσια σε λίπος σε γενετικά τροποποιημένα ποντίκια που δεν εκφράζουν PON1 είχε ως αποτέλεσμα την ταχύτερη ανάπτυξη αθηρωματικών βλαβών [157].

Τέλος, η ενεργότητα της PON1 είναι μειωμένη σε ασθενείς με υπερθυρεοειδισμό, ενώ αυξάνεται μετά τη θεραπεία του [229].



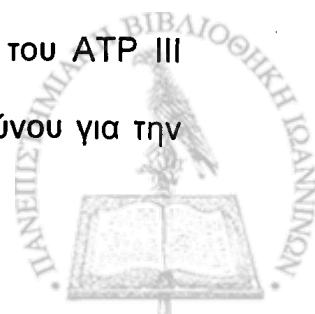
## ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ

### Ορισμός - επιδημιολογικά δεδομένα:

Ως μεταβολικό σύνδρομο (κατά το National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III -ATP III) ορίζεται η συνύπαρξη 3 ή περισσότερων από τους ακόλουθους παράγοντες: περιφέρεια μέσης > 102 cm στους άνδρες ή > 88 cm στις γυναίκες, τριγλυκερίδια > 150 mg/dL, HDL χοληστερόλη < 40 mg/dL στους άνδρες ή 50 mg/dL στις γυναίκες, αρτηριακή πίεση  $\geq$  130/85 mmHg και γλυκόζη νηστείας  $\geq$  110 mg/dL (μόλις πρόσφατα η Αμερικανική Διαβητολογική Εταιρεία έθεσε ως όριο τα 100 mg/dL για τη διάγνωση της διαταραχής της γλυκόζης νηστείας) [230-234]. Ανάλογος ορισμός έχει δοθεί τόσο από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (WHO), όσο και από την Αμερικανική Εταιρεία Κλινικών Ενδοκρινολόγων (AACE) [230-234].

Η μελέτη NHANES (Third National Health and Nutrition Examination Survey) έδειξε ότι ο επιπολασμός του μεταβολικού συνδρόμου στις ΗΠΑ είναι 24%, που αντιστοιχεί σε 47 εκατομμύρια άτομα [231,233,234]. Ειδικότερα, το 25% των ατόμων άνω των 20 ετών και το 45% άνω των 50 ετών στις ΗΠΑ πληρούν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου. Ανάλογα είναι και τα στοιχεία για την Ελλάδα, όπου το 25% των ανδρών και το 15% των γυναικών ηλικίας μεγαλύτερης των 18 ετών πληρούν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου [235].

Οι περισσότεροι ασθενείς με καρδιαγγειακή νόσο έχουν πολλούς παράγοντες κινδύνου. Το 1988 ο Reaven παρατήρησε ότι κάποιοι από τους παράγοντες κινδύνου συνυπάρχουν με αυξημένη συχνότητα [233,234,236]. Η συνάθροιση αυτών των παραγόντων αρχικά χαρακτηρίστηκε ως σύνδρομο X και αργότερα ως σύνδρομο αντίστασης στην ινσουλίνη ή μεταβολικό σύνδρομο [230]. Η αναφορά του ATP III αναγνώρισε το μεταβολικό σύνδρομο ως πολυσύνθετο παράγοντα κινδύνου για την





εμφάνιση της καρδιαγγειακής νόσου. Όμως, τα περισσότερα από τα άτομα που πληρούν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου εμφανίζουν αντίσταση στη δράση της ινσουλίνης που με τη σειρά της οδηγεί σε αύξηση της συχνότητας εμφάνισης σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 [230-234]. Βέβαια, η εμφάνιση σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 οδηγεί σε κατακόρυφη αύξηση της επίπτωσης της καρδιαγγειακής νόσου. Τέλος, το μεταβολικό σύνδρομο συσχετίζεται με το σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών, τη λιπώδη διήθηση του ήπατος, τη χολολιθίαση, το άσθμα, τις διαταραχές του ύπνου και με ορισμένες μορφές καρκίνου [230-234].

#### **Επιπρόσθετα χαρακτηριστικά του μεταβολικού συνδρόμου - μηχανισμοί:**

Εκτός των κλασικών χαρακτηριστικών που αναφέρονται ως κριτήρια, το μεταβολικό σύνδρομο χαρακτηρίζεται από ποσοτικές και ποιοτικές διαταραχές των λιποπρωτεϊνών, από διαταραχή του συστήματος πήξης-ινωδόλυσης, από την προαγωγή της φλεγμονώδους αντίδρασης και από την εμφάνιση μικρο-αλβουμινουρίας [230,233,234].

Αναλυτικότερα, η δυσλιπιδαιμία του μεταβολικού συνδρόμου χαρακτηρίζεται από την αύξηση της απολιποπρωτεΐνης Β, από την παρουσία μικρών πυκνών LDL σωματιδίων και μικρών πυκνών HDL σωματιδίων (με ανάλογη ελάττωση των μεγάλων HDL σωματιδίων), από την ελάττωση της απολιποπρωτεΐνης ΑΙ και από την αύξηση των υπολειμμάτων των λιποπρωτεϊνών [230,231,233,234,239].

Η αυξημένη φλεγμονώδης αντίδραση που παρατηρείται στους ασθενείς με μεταβολικό σύνδρομο αναγνωρίζεται από την αύξηση των επιπέδων της CRP (εξαιτίας της απελευθέρωσης κυτταροκινών από τον λιπώδη ιστό) και συσχετίζεται με τα αυξημένα επίπεδα της οξειδωμένης LDL στο πλάσμα. Η αύξηση αυτή της



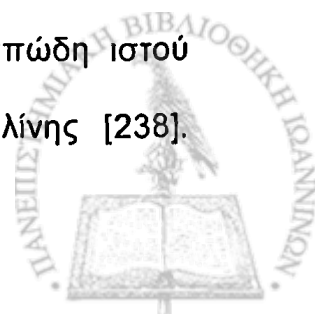
φλεγμονώδους αντίδρασης (οξειδωτικό stress) έχει ως αποτέλεσμα τη δυσλειτουργία του ενδοθηλίου.

Τέλος, η διαταραχή του συστήματος πήξης-ινωδόλυσης που παρατηρείται στους ασθενείς με μεταβολικό σύνδρομο χαρακτηρίζεται από την αύξηση των επιπέδων του ινωδογόνου και του αναστολέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου 1 (PAI-1) [233,234].

Μέχρι σήμερα δύο θεωρούνται οι βασικότεροι αιτιολογικοί παράγοντες που οδηγούν στην εμφάνιση του μεταβολικού συνδρόμου: η κεντρογενής παχυσαρκία και η αντίσταση στη δράση της ινσουλίνης [230,233,234], (Εικόνα 7).

Η παχυσαρκία, εξαιτίας της έκκρισης από το λιπώδη ιστό μη-εστεροποιημένων λιπαρών οξέων (NEFA), κυτταροκινών, PAI-1 και αδιπονεκτίνης συσχετίζεται με την αύξηση της αρτηριακής πίεσης και του σακχάρου του πλάσματος, τη μείωση της HDL χοληστερόλης, καθώς και την αύξηση των τριγλυκεριδίων και της ολικής χοληστερόλης. Συγκεκριμένα, τα μη-εστεροποιημένα λιπαρά οξέα υπερφορτώνουν το μυϊκό και το λιπώδη ιστό με λίπος με αποτέλεσμα την αντίσταση στη δράση της ινσουλίνης, ενώ η αύξηση των επιπέδων του PAI-1 και των κυτταροκινών επάγουν τη φλεγμονώδη αντίδραση και ενεργοποιούν το σύστημα πήξης [230,232].

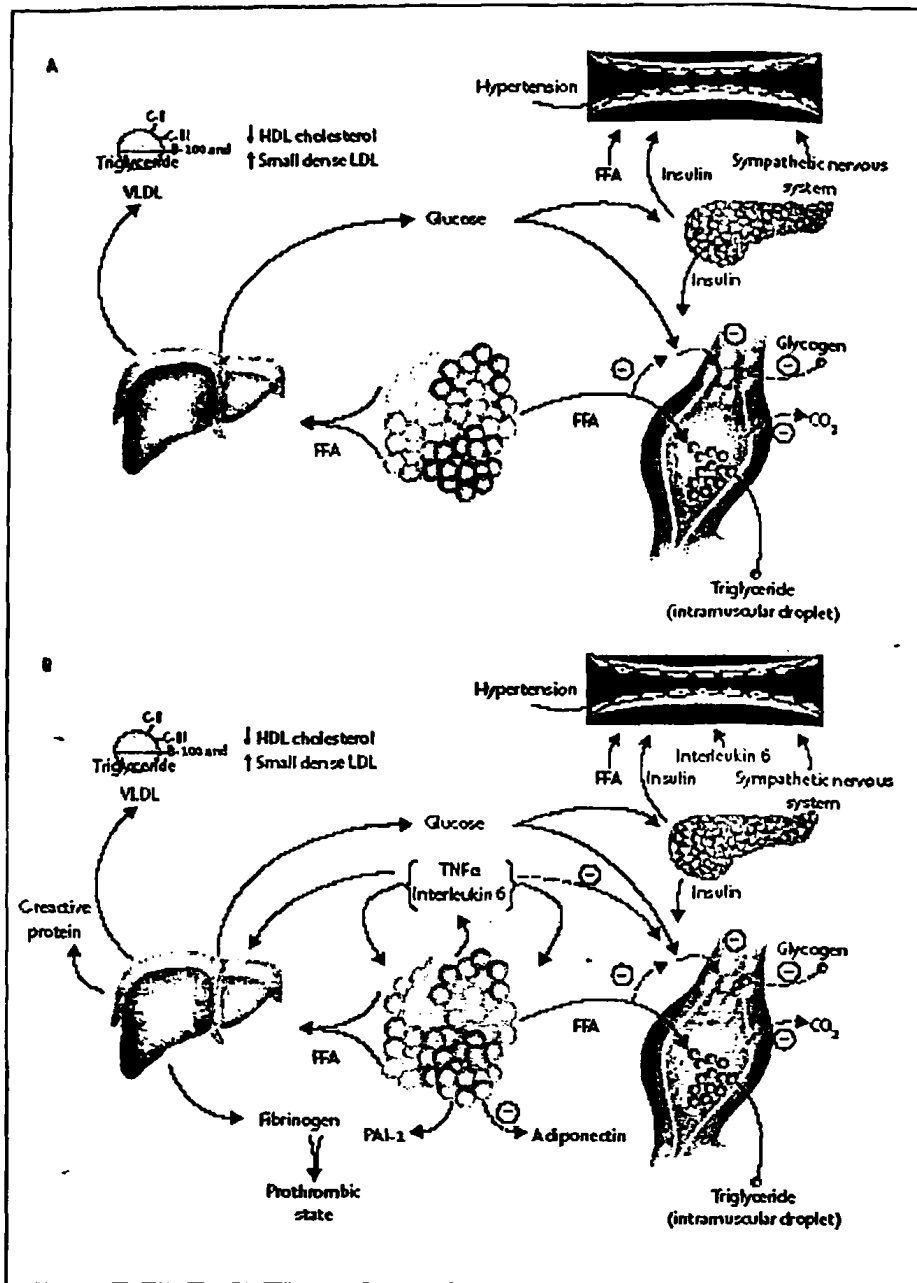
Ο άλλος κύριος αιτιολογικός παράγοντας του μεταβολικού συνδρόμου είναι η αντίσταση στη δράση της ινσουλίνης. Πρέπει να σημειώσουμε ότι οι δύο κύριοι αιτιολογικοί παράγοντες του μεταβολικού συνδρόμου, δηλαδή η αντίσταση στη δράση της ινσουλίνης και η κεντρογενής παχυσαρκία συσχετίζονται ισχυρά μεταξύ τους. Ωστόσο, για μία συγκεκριμένη ποσότητα λιπώδη ιστού αντιστοιχεί ένα εύρος τιμών ινσουλίνης, γεγονός που αποδεικνύει ότι για την ίδια μάζα λιπώδη ιστού αντιστοιχούν διαφορετικές τιμές ευαισθησίας στη δράση της ινσουλίνης [238].



Χαρακτηριστικά αναφέρεται η συχνή εμφάνιση αντίστασης στη δράση της ινσουλίνης σε πληθυσμούς Νότιο-Ασιατών με δείκτη μάζας σώματος (BMI) < 25 kg/m<sup>2</sup>, με αποτέλεσμα την αύξηση της επίπτωσης του σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 και της καρδιαγγειακής νόσου σε αυτούς τους πληθυσμούς.

Η αντίσταση στη δράση της ινσουλίνης προκαλεί αρχικά τη συσσώρευση μη-εστεροποιημένων λιπαρών οξέων στο μυϊκό ιστό. Όσα από αυτά περισσεύουν εκτρέπονται στο ήπαρ, με αποτέλεσμα τη λιπώδη διήθηση του ήπατος. Παράλληλα η υπερινσουλιναιμία αυξάνει την έκκριση από το ήπαρ των πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών και κατά συνέπεια των τριγλυκεριδίων, ενώ επίσης αυξάνει την νέο-γλυκογέννηση από το ήπαρ με αποτέλεσμα τη διαταραχή στην ανοχή της γλυκόζης. Η αύξηση της γλυκόζης του αίματος διαμέσου πολλών μηχανισμών (δυσλειτουργία του ενδοθηλίου, διαβητική δυσλιπιδαιμία, διαταραχή του συστήματος πήξης-ινωδόλυσης, οξειδωτικό stress, αυτόνομη νευροπάθεια, άμεση τοξικότητα από την υπεργλυκαιμία) έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία αθηροσκληρωτικών βλαβών [232,234,239]. Τέλος, η αντίσταση στη δράση της ινσουλίνης αυξάνει τα επίπεδα της αρτηριακής πίεσης, κυρίως εξαιτίας της αύξησης της δραστηριότητας του συμπαθητικού νευρικού συστήματος [234].





Εικόνα 7: Παθοφυσιολογία του μεταβολικού συνδρόμου.

α) Η απελευθέρωση των ελεύθερων λιπαρών οξέων (FFA) από το λιπώδη ιστό και η υπερνισουλιναιμία αποτελούν τα κύρια αίτια για την εκδήλωση του μεταβολικού συνδρόμου.

β) Συμμετοχή της φλεγμονώδους αντίδρασης διαμέσου της έκκρισης κυτταροκινών (IL-6, TNFα) στην εκδήλωση του μεταβολικού συνδρόμου.

Το μεταβολικό σύνδρομο ως παράγοντας κινδύνου για την εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου και σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2:

Τα δεδομένα για το ρόλο του μεταβολικού συνδρόμου στην εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου προέρχονται κυρίως από τη μελέτη Framingham σε 3323 άνδρες και γυναίκες που πληρούσαν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου [240,241]. Η μελέτη (διάρκειας 8 χρόνων) έδειξε ότι το 25% των νέο-εμφανιζόμενων καρδιαγγειακών επεισοδίων ήταν δυνατό να προβλεφθεί από την παρουσία του μεταβολικού συνδρόμου. Όταν η παρουσία του μεταβολικού συνδρόμου δεν συνδυαζόταν με την εμφάνιση σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, η δεκαετής πιθανότητα για την εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου ήταν < 20% (συνήθως κυμαινόταν από 10-20% στους άνδρες). Αντίθετα στις γυναίκες ο δεκαετής κίνδυνος ήταν σαφώς μικρότερος (<10%), εύρημα που αποδόθηκε στο γεγονός ότι η πλειονότητα των γυναικών είχε ηλικία < 50 έτη.

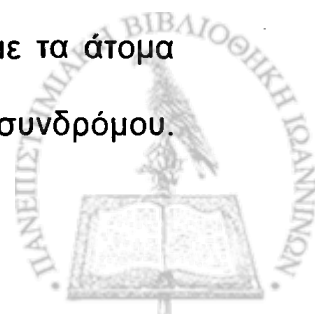
Επίσης, έγινε προσπάθεια να διευκρινισθεί ο ακριβής ρόλος των επιμέρους χαρακτηριστικών που απαρτίζουν το μεταβολικό σύνδρομο για την εμφάνιση καρδιαγγειακών επεισοδίων. Συγκεκριμένα, στην πολυπαραγοντική ανάλυση μελετήθηκε το μοντέλο που περιλάμβανε τους κλασσικούς παράγοντες κινδύνου κατά Framingham μαζί με τα υπόλοιπα χαρακτηριστικά του μεταβολικού συνδρόμου (παχυσαρκία, αυξημένα τριγλυκερίδια και αυξημένα επίπεδα γλυκόζης). Από την ανάλυση των δεδομένων δεν προέκυψε σημαντική βελτίωση της πρόβλεψης του καρδιαγγειακού κινδύνου όταν συνυπολογίσθηκε και η παρουσία του μεταβολικού συνδρόμου σε σύγκριση με τον υπολογισμό του καρδιαγγειακού κινδύνου που προκύπτει μόνο από τον αλγόριθμο του Framingham. Κατά συνέπεια ο αυξημένος καρδιαγγειακός κίνδυνος που χαρακτηρίζει το μεταβολικό σύνδρομο οφείλεται στην ύπαρξη των κοινών χαρακτηριστικών του μεταβολικού συνδρόμου και του



αλγόριθμου του Framingham. Έτσι, τα επίπεδα της ολικής και HDL χοληστερόλης, η αρτηριακή πίεση και ο σακχαρώδης διαβήτης αντιπροσωπεύουν τους κυριότερους παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση της καρδιαγγειακής νόσου. Επιπρόσθετα, ο συνυπολογισμός των επιπέδων της CRP δείχνει να βελτιώνει την ικανότητα πρόβλεψης για την εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου, ανεξάρτητα από την ύπαρξη των άλλων παραγόντων κινδύνου [230,233,234,239]. Με βάση τα δεδομένα αυτά η Αμερικανική Καρδιολογική Εταιρεία και το Κέντρο για την Πρόληψη και την Αντιμετώπιση των Νοσημάτων (American Heart Association/Center for Disease Control and Prevention –AHA/CDC) προτείνει τη μέτρηση της CRP μόνο για τα άτομα που έχουν 10-20% 10-ετή κίνδυνο για την εμφάνιση καρδιαγγειακών επεισοδίων [234].

Ένα άλλο σημαντικό εύρημα που προέκυψε από τη μελέτη Framingham είναι ότι το μεταβολικό σύνδρομο συσχετίζεται με την εμφάνιση σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 [230,233,234]. Είναι χαρακτηριστικό ότι το 50% του κινδύνου για την εμφάνιση σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 μπορεί να αποδοθεί στην ύπαρξη του μεταβολικού συνδρόμου. Ο σακχαρώδης διαβήτης χαρακτηρίζεται ως ισοδύναμο της στεφανιαίας νόσου, αφού είναι γνωστό ότι οι άνδρες με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 έχουν > 20% δεκαετή κίνδυνο για την εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου, ενώ το αντίστοιχο ποσοστό για τις γυναίκες κυμαίνεται από 10-20%.

Ανάλογα είναι και τα δεδομένα σε ασθενείς με έμφραγμα του μυοκαρδίου. Στα πλαίσια της μελέτης GISSI το 29% από τους 11323 ασθενείς με έμφραγμα του μυοκαρδίου πληρούσαν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου. Τα άτομα με μεταβολικό σύνδρομο είχαν κατά 93% αυξημένη πιθανότητα (στατιστικά σημαντική) να εμφανίσουν σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 σε σύγκριση με τα άτομα που δεν πληρούσαν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου.



Επιπρόσθετα, τα άτομα με μεταβολικό σύνδρομο είχαν κατά 29% αυξημένη πιθανότητα (στατιστικά σημαντική) να εμφανίσουν ένα μείζον καρδιαγγειακό σύμβαμα ή να πεθάνουν σε σύγκριση με τα άτομα που δεν πληρούσαν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου [242].

Ανάλογη είναι και η δυσμενής προγνωστική αξία του μεταβολικού συνδρόμου για την εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου στον ελληνικό πληθυσμό, γεγονός ιδιαίτερα σημαντικό, αφού υπολογίζεται ότι 2,1 εκατομμύρια των Ελλήνων πληρούν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου [243]. Συγκεκριμένα, σε σύνολο 4153 ανδρών και γυναικών, τα άτομα που πληρούσαν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου είχαν 94% μεγαλύτερη πιθανότητα (στατιστικά σημαντική) να εμφανίσουν οποιαδήποτε αγγειακή νόσο (στεφανιαία νόσο, αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, περιφερική αγγειοπάθεια), ενώ τα άτομα που πληρούσαν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου αλλά δεν είχαν σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 είχαν 48% μεγαλύτερη πιθανότητα (στατιστικά σημαντική) να εμφανίσουν αγγειακή νόσο [244].



### Θεραπεία του μεταβολικού συνδρόμου:

Η θεραπευτική προσέγγιση του μεταβολικού συνδρόμου είναι πολυπαραγοντική, στοχεύοντας ξεχωριστά σε κάθε ένα από τα χαρακτηριστικά του [230,233,234].

Η απώλεια βάρους σε συνδυασμό με τη σωματική άσκηση αποτελούν τους κύριους θεραπευτικούς στόχους. Η ελάττωση του σωματικού βάρους ελαττώνει τα επίπεδα της ολικής χοληστερόλης και των τριγλυκεριδίων, αυξάνει την HDL χοληστερόλη, ελαττώνει την αρτηριακή πίεση και τη γλυκόζη, ενώ παράλληλα αυξάνει την ευαισθησία στη δράση της ινσουλίνης. Επιπρόσθετα, η ελάττωση του σωματικού βάρους μειώνει τα επίπεδα της CRP και του PAI-1. Βασικό στόχο αποτελεί η ελάττωση του BMI < 30 kg/m<sup>2</sup> που μπορεί να επιτευχθεί με μείωση της ημερήσιας θερμιδικής πρόσληψης κατά 500-1000 θερμίδες, ενώ ιδανική θεωρείται η επιπρόσθετη μείωση του BMI < 27 kg/m<sup>2</sup> [233,234].

Η σωματική άσκηση επίσης αυξάνει την ευαισθησία στη δράση της ινσουλίνης. Ένας από τους καλύτερους τρόπους φυσικής άσκησης θεωρείται το περπάτημα 5 χιλιομέτρων σε μία ώρα για 3 φορές την εβδομάδα [233]. Η τροποποίηση του τρόπου ζωής που συνίσταται σε ελάττωση του σωματικού βάρους κατά 7% και τακτική φυσική άσκηση μείωσε κατά 58% την πιθανότητα εμφάνισης σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 στη μελέτη Diabetes Prevention Program [233,234].

Δύο κατηγορίες αντιδιαβητικών φαρμάκων, τα διγουανίδια και οι θιαζολιδινεδιόνες, φαίνεται ότι αυξάνουν την ευαισθησία στη δράση της ινσουλίνης [222,224,225,226].

Στη μελέτη Diabetes Prevention Program, η χορήγηση της μετφορμίνης ελάττωσε σημαντικά την πιθανότητα ανάπτυξης σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 [245]. Πρόσφατα, στα πλαίσια της ίδιας μελέτης, τα άτομα με διαταραχή στην ανοχή της γλυκόζης και με γλυκόζη ορού > 95 mg/dL που έλαβαν μετφορμίνη είχαν κατά 17% μικρότερη πιθανότητα να εμφανίσουν μεταβολικό σύνδρομο. Αντίστοιχα, τα άτομα αυτά όταν





τροποποίησαν τον τρόπο ζωής τους (7% ελάττωση του σωματικού βάρους και 150 min άσκηση την εβδομάδα) είχαν κατά 41% μικρότερη πιθανότητα να εμφανίσουν μεταβολικό σύνδρομο (και τα δύο αποτελέσματα ήταν στατιστικά σημαντικά). Έτσι, η τροποποίηση του τρόπου ζωής ή/και η μετφορμίνη σε άτομα με διαταραχή στην ανοχή της γλυκόζης ή με διαταραχή της γλυκόζης νηστείας εμποδίζει την εμφάνιση σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 και μεταβολικού συνδρόμου [246]. Προς το παρόν η χορήγηση αυτών των φαρμάκων για την πρόληψη της καρδιαγγειακής νόσου σε μη διαβητικά άτομα με αντίσταση στη δράση της ινσουλίνης δεν συνιστάται εξαιτίας της έλλειψης τυχαιοποιημένων κλινικών μελετών με πρωτεύον καταληκτικό σημείο την ελάττωση της καρδιαγγειακής νοσηρότητας και θνητότητας.

Η τροποποίηση του λιπιδαιμικού προφίλ των ασθενών με μεταβολικό σύνδρομο με τη χρήση υπολιπιδαιμικών φαρμάκων αποτελεί επιπρόσθετο θεραπευτικό στόχο [230,231,233,234]. Πρόσφατες αναλύσεις των τυχαιοποιημένων κλινικών μελετών έδειξαν ότι οι στατίνες ελαττώνουν τον καρδιαγγειακό κίνδυνο στις υποομάδες των ασθενών με μεταβολικό σύνδρομο, ενώ ανάλογα είναι τα αποτελέσματα από τη χορήγηση μπεζαφιμπράτης που ελάττωσε κατά 26% τη καρδιαγγειακή θνητότητα στα άτομα με μεταβολικό σύνδρομο που έλαβαν μέρος στη μελέτη Bezafibrate Infarction Prevention (BIP) [247,248]. Παραμένει άγνωστο κατά πόσο ο συνδυασμός φιβράτης με στατίνη μπορεί να είναι περισσότερο ευεργετικός στην ελάττωση της καρδιαγγειακής νοσηρότητας και θνητότητας από τη μονοθεραπεία (πρέπει να σημειωθεί ότι ο συνδυασμός γεμφιπροζίλης με στατίνη πρέπει να αποφεύγεται γιατί η γεμφιπροζίλη αυξάνει τα επίπεδα των στατινών με αποτέλεσμα την αυξημένη συχνότητα ανεπιθύμητων ενεργειών) [233,234]. Αυτό που θεωρείται βέβαιο είναι ότι ο πρωταρχικός στόχος της υπολιπιδαιμικής θεραπείας είναι η ελάττωση της LDL-C στα επιθυμητά επίπεδα. Δευτερεύων στόχος είναι η αύξηση της HDL-C και η



ελάττωση των τριγλυκεριδίων (όταν τα τριγλυκερίδια είναι  $> 200 \text{ mg/dL}$ ) [225,226]. Σε άτομα με μεμονωμένη μείωση της HDL-C ( $< 40 \text{ mg/dL}$  στους άνδρες και  $< 50 \text{ mg/dL}$  στις γυναίκες) θεωρείται δόκιμη η χορήγηση νικοτινικού οξέως, αν και χρειάζεται προσοχή στα άτομα με διαταραχή της γλυκόζης νηστείας επειδή το νικοτινικό οξύ αυξάνει τα επίπεδα της γλυκόζης του ορού [233]. Επιπρόσθετα, θα πρέπει να αναφερθεί η ευεργετική επίδραση των θιαζολιδινεδιονών στην αύξηση της HDL-C και στην ελάττωση των μικρών πυκνών LDL σωματιδίων που αποτελούν επιπρόσθετους και ανεξάρτητους παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου [231,233,234].

Η ελάττωση της αρτηριακής πίεσης με τη χρήση αντι-υπερτασικών φαρμάκων αποτελεί ένα ακόμη στόχο της θεραπείας του μεταβολικού συνδρόμου. Αν και κανένα αντι-υπερτασικό φάρμακο μέχρι στιγμής δεν έχει αποδειχθεί ανώτερο έναντι των άλλων αντι-υπερτασικών στην αντιμετώπιση του μεταβολικού συνδρόμου, υπάρχουν ενδείξεις ότι οι ανταγωνιστές του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης και των αναστολέων των υποδοχέων της αγγειοτενσίνης II αυξάνουν την ευαισθησία στη δράση της ινσουλίνης, ενώ παράλληλα ελαττώνουν την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία [232-234]. Ο στόχος της αρτηριακής πίεσης σε ασθενείς που έχουν σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 είναι  $< 130/80 \text{ mmHg}$ . Ο στόχος αυτός δύσκολα επιτυγχάνεται με μονοθεραπεία, αφού συνήθως χρειάζεται αγωγή κατά μέσο όρο με 3 αντι-υπερτασικά φάρμακα [233]. Αν και με βάση τα υπάρχοντα δεδομένα προτείνεται από ορισμένους ερευνητές η χορήγηση αρχικά ενός αναστολέα του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης ή αναστολέα των υποδοχέων της αγγειοτενσίνης II και στη συνέχεια η χορήγηση των αντι-υπερτασικών φαρμάκων που ανήκουν στις υπόλοιπες κατηγορίες, είναι σίγουρο ότι η ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης στα επιθυμητά



επίπεδα με οποιοδήποτε φάρμακο πρέπει να αποτελεί τον κύριο θεραπευτικό στόχο [233,234].

Τέλος, η χορήγηση φαρμάκων που ελαττώνουν την ενεργοποίηση του συστήματος πήξης-ινωδόλυσης και μειώνουν τη φλεγμονώδη αντίδραση που παρατηρείται στα άτομα που πληρούν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου, όπως η ασπιρίνη ή τα υπολιπιδαιμικά φάρμακα που ελαττώνουν τα επίπεδα της CRP, πιθανά να αποτελέσουν σημαντικά όπλα για την αντιμετώπιση του μεταβολικού συνδρόμου [233,234]. Εξάλλου σύμφωνα με την Αμερικανική Καρδιολογική Εταιρεία (American Heart Association) προτείνεται η χορήγηση ασπιρίνης στα άτομα με > 20% 10ετή κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών επεισοδίων, χωρίς να γίνεται διάκριση αν τα άτομα αυτά πληρούν ή όχι τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου [234].



### ΑΠΟΛΙΠΟΠΡΩΤΕΪΝΗ Ε (Αpo E)

Η Αpo E είναι μία πρωτεΐνη που χαρακτηρίζεται από ισχυρή συγγένεια με τον υποδοχέα LDL (25 φορές ισχυρότερη συγγένεια από την LDL). Η Αpo E βρίσκεται στα VLDL σωματίδια (που εκκρίνονται από το ήπαρ και μεταφέρουν τριγλυκερίδια στη περιφέρεια) και στα χυλομικρά (που μεταφέρουν τη χοληστερόλη και τα τριγλυκερίδια που προέρχονται από τη διαιτητική πρόσληψη) [249-251]. Το κύριο όργανο παραγωγής της Αpo E είναι το ήπαρ (65% της παραγωγής), ενώ είναι γνωστό ότι και άλλοι ιστοί μπορούν να συνθέσουν Αpo E (μακροφάγα, αστροκύτταρα, λεία μυϊκά κύτταρα) [249,251].

Η κύρια λειτουργία της Αpo E είναι η ρύθμιση της σύνθεσης και του καταβολισμού από το ήπαρ όλων των πλούσιων σε τριγλυκερίδια λιποπρωτεϊνών, δηλαδή των VLDL, των χυλομικρών και των υπολειμμάτων τους [249-251].

Αναλυτικότερα, το ήπαρ εκκρίνει VLDL σωματίδια που περιέχουν Αpo B και Αpo E. Οι λιποπρωτεΐνες αυτές, διαμέσου της δράσης της ηπατικής λιπάσης που προκαλεί την απελευθέρωση ελεύθερων λιπαρών οξέων, μεταπίπτουν σε ενδιάμεσης (IDL) και τελικά σε χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (LDL). Τα υπολείμματα των VLDL σωματιδίων προσλαμβάνονται από το ήπαρ διαμέσου της Αpo E, ενώ αντίθετα η πρόσληψη των LDL σωματιδίων από το ήπαρ πραγματοποιείται διαμέσου της Αpo B. Ο καταβολισμός των υπολειμμάτων των λιποπρωτεϊνών γίνεται στο ήπαρ διαμέσου 3 οδών: είτε άμεσα από τον LDL υποδοχέα, είτε διαμέσου της συσχετιζόμενης με τον LDL υποδοχέα πρωτεΐνης (LDL receptor related protein -LRP-), είτε από τις πρωτεογλυκάνες του θεικού ηπαρινοειδούς (HSPG). Ειδικότερα, τα σωματίδια των λιποπρωτεϊνών ενώνονται αρχικά στο ήπαρ με την Αpo E και στη συνέχεια με τις HSPG. Ακολούθως οι HSPG ενώνονται με τον LRP δημιουργώντας το σύμπλεγμα HSPG-LRP, το οποίο είναι ικανό να καταβολίζει με ταχύ ρυθμό τα υπολείμματα των



λιποπρωτεϊνών που είναι ενωμένα με την Apo E [251-254]. Συμπερασματικά, ο καταβολισμός όλων των πλούσιων σε τριγλυκερίδια λιποπρωτεϊνών (VLDL, χυλομικρά) και των υπολειμμάτων τους, αλλά όχι των LDL, ρυθμίζεται από την Apo E.

Τα επίπεδα της Apo E στο πλάσμα συσχετίζονται θετικά με τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων και αρνητικά με τα επίπεδα της HDL-C [255-257]. Εξάλλου τα επίπεδα της Apo E πρέπει να βρίσκονται μέσα σε ένα προκαθορισμένο εύρος τιμών, αφού τα ιδιαίτερα αυξημένα επίπεδα της Apo E εμποδίζουν την λιπόλυση των πλούσιων σε τριγλυκερίδια λιποπρωτεϊνών [251,257,258]. Οι πολύ αυξημένες τιμές της Apo E επηρεάζουν επίσης τα επίπεδα της HDL-C, αφού η αναστολή της λιπόλυσης των πλούσιων σε τριγλυκερίδια λιποπρωτεϊνών δεν μπορεί να προσφέρει το απαραίτητο υπόστρωμα για την σύνθεση των HDL σωματιδίων [251,257-259]. Αντίστροφα, τα πολύ χαμηλά επίπεδα της Apo E εμποδίζουν με άμεσο τρόπο τη λιπόλυση των πλούσιων σε τριγλυκερίδια λιποπρωτεϊνών, με αποτέλεσμα την εμφάνιση υπερλιπιδαιμίας [249-251]. Την επίδραση της Apo E στο λιπιδαιμικό προφίλ επιβεβαιώνουν τα πειραματικά αποτελέσματα σε ποντίκια που δεν εκφράζουν το γονίδιο της Apo E (Apo E<sup>-/-</sup> knockout mice). Τα ποντίκια αυτά έχουν πολύ αυξημένες τιμές χοληστερόλης με αποτέλεσμα τη δημιουργία σοβαρών αθηρωματικών βλαβών, ακόμα και αν τα υποβάλλουμε σε δίαιτα χαμηλή σε λιπαρά. Επιπρόσθετα, αν στα ποντίκια αυτά χορηγήσουμε ανασυνδυσασμένη Apo E μπορούμε να αναστείλλουμε την εξέλιξη των αθηρωματικών βλαβών [251]. Ανάλογα είναι και τα δεδομένα σε ανθρώπους, αφού τα ελαττωμένα επίπεδα της Apo E έχουν συσχετισθεί με τη δημιουργία αθηρωματικών βλαβών [251]. Συμπερασματικά, η Apo E εμπλέκεται στην αθηρωματική διαδικασία, ενώ οι ακραίες τιμές της Apo E (είτε



πολύ αυξημένες είτε πολύ μειωμένες) εμποδίζουν τη λιπόλυση των πλούσιων σε τριγλυκερίδια λιποπρωτεϊνών.

Το γονίδιο της Apo E βρίσκεται στο χρωμόσωμα 19 [251]. Οι σημαντικότεροι πολυμορφισμοί του γονιδίου της apo E αφορούν 3 ισομορφές: ε2, ε3 (wild type) και ε4. Συγκριτικά με τα άτομα που είναι ομοζυγώτες για το αλληλίο ε3 (ε3ε3), οι φορείς του αλληλίου ε2 έχουν ελαττωμένα επίπεδα ολικής και LDL χοληστερόλης, ελαττωμένα επίπεδα Apo B και αυξημένα επίπεδα τριγλυκεριδίων και Apo E, ενώ οι φορείς του αλληλίου ε4 έχουν αυξημένα επίπεδα ολικής και LDL χοληστερόλης, αυξημένα επίπεδα Apo B και ελαττωμένα επίπεδα Apo E [251,249,250,260]. Η διαφορά των λιπιδίων που προκύπτει ανάλογα με τις ισομορφές της Apo E εξηγείται από το γεγονός ότι η ικανότητα σύνδεσης της Apo E2 με τον LDL-υποδοχέα στα ηπατοκύτταρα είναι κατά 98% μικρότερη σε σύγκριση με την ικανότητα σύνδεσης της Apo E4, με αποτέλεσμα τη μειωμένη είσοδο της χοληστερόλης στα ηπατοκύτταρα που οδηγεί αυτόματα σε αύξηση του αριθμού των LDL-υποδοχέων (up-regulation) [251]. Πρόσφατη μετα-ανάλυση 15492 ασθενών με στεφανιαία νόσο και 32965 υγιών ατόμων έδειξε ότι τα άτομα που φέρουν το αλληλίο ε4 έχουν 42% μεγαλύτερο κίνδυνο για την εμφάνιση στεφανιαίας νόσου σε σχέση με τους ομοζυγώτες ε3ε3 [260]. Αντίθετα, σε άλλη μετα-ανάλυση 18000 ασθενών με ισχαιμικό αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο και 58000 υγιών ατόμων δεν βρέθηκε καμία συσχέτιση μεταξύ του γονιδίου της apo E και της εμφάνισης ισχαιμικών αγγειακών εγκεφαλικών επεισοδίων [261].



## ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Η μελέτη πραγματοποιήθηκε στο εξωτερικό ιατρείο λιπιδίων του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων.

- **ΥΛΙΚΟ**

Το υλικό της μελέτης αποτέλεσαν άτομα που επισκέφθηκαν το εξωτερικό ιατρείο είτε για απλό έλεγχο στα πλαίσια προληπτικής ιατρικής εξέτασης (screening test), χωρίς να γνωρίζουν ότι πάσχουν από κάποιο νόσημα, είτε είχαν μόλις διαγνωσθεί από εξωτερικό ιατρό ως υπερτασικά άτομα (ιδιοπαθής συστολική ή/και διαστολική υπέρταση) ή άτομα με δυσλιπιδαιμία. Κανένα άτομο δεν έπαιρνε αντιυπερτασικά ή υπολιπιδαιμικά φάρμακα. Όλα τα άτομα ήταν ελληνικής καταγωγής και ζούσαν στην Ελλάδα. Από τη μελέτη αποκλείσθηκαν άτομα με ηπατική νόσο (αύξηση της πυροσταφυλικής ή οξαλοξικής τρανσαμινάσης μεγαλύτερη από 3 φορές από την ανώτερη φυσιολογική τιμή, δηλαδή  $\geq 120$  IU/l), νεφρική νόσο (κρεατινίνη ορού  $> 1.5$  mg/dl), υποθυρεοειδισμό (TSH  $> 5$   $\mu$ IU/ml), κατάχρηση οινόπνεύματος ( $> 3$  ποτά την ημέρα), καθώς και άτομα με οποιαδήποτε αλλαγή στις συνήθειες του καπνίσματος. Επιπρόσθετα, αποκλείσθηκαν από τη μελέτη τα άτομα που έπαιρναν φάρμακα που θα μπορούσαν να επηρεάσουν το λιπιδαιμικό προφίλ, καθώς και την ηπατική ή νεφρική λειτουργία (συμπεριλαμβανομένων των αντισυλληπτικών ή της θεραπείας υποκατάστασης με ορμονικά σκευάσματα).



Από το σύνολο των ατόμων δημιουργήθηκαν 3 μεγάλες κατηγορίες:

- ο Υπερτασικοί ασθενείς.
- ο Δυσλιπιδαιμικοί ασθενείς.
- ο Άτομα που πληρούσαν ή όχι τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου.

Σε όλους τους ασθενείς συστήθηκε αρχικά υγιεινοδιαιτητική παρέμβαση για 3 μήνες. Έτσι, οι ασθενείς υποβλήθηκαν σε δίαιτα σύμφωνα με τις συστάσεις της αμερικανικής εθνικής επιτροπής για την αντιμετώπιση της χοληστερόλης (National Cholesterol Education Program) που περιλαμβάνει οδηγίες για την τροποποίηση της δίαιτας και την ελάττωση της συνολικής θερμιδικής πρόσληψης [262]. Συγκεκριμένα, το 60% από τη συνολική θερμιδική πρόσληψη συνιστάται να προέρχεται από υδατάνθρακες (κατά προτίμηση σύμπλοκους υδατάνθρακες, δηλαδή από δημητριακά ολικής αλέσεως, φρούτα και λαχανικά), το 25-35% από λίπη (έως 20% από μονοακόρεστα και έως 10% από πολυακόρεστα λιπαρά οξέα) και το 15% από πρωτεΐνες. Επίσης δόθηκαν οδηγίες ώστε η ημερήσια πρόσληψη των κορεσμένων λιπαρών οξέων να είναι μικρότερη από το 7% της συνολικής θερμιδικής πρόσληψης, η ημερήσια πρόσληψη χοληστερόλης να είναι μικρότερη από 200 mg, η ημερήσια πρόσληψη φυτικών στανολών/στερολών να είναι 2 gr και η ημερήσια πρόσληψη φυτικών ινών να είναι 10-25 gr. Επιπρόσθετα στους υπερτασικούς ασθενείς συστήθηκε δίαιτα πτωχή σε αλάτι (ημερήσια πρόσληψη NaCl < 6 gr) και πλούσια σε γαλακτοκομικά προϊόντα, φυτικές ίνες και φρούτα (δίαιτα DASH). Παράλληλα, σε όλους τους ασθενείς συστήθηκε τροποποίηση του τρόπου ζωής, δηλαδή φυσική άσκηση (γρήγορο περπάτημα) για 30-40 min 3-4 φορές την εβδομάδα.





Μετά το τέλος αυτής της περιόδου μετρήθηκαν οι τιμές των λιπιδίων και τα επίπεδα της αρτηριακής πίεσης. Στη συνέχεια, στα άτομα με υπέρταση (συστολική αρτηριακή πίεση > 140 mmHg ή/και διαστολική αρτηριακή πίεση > 90 mmHg) ή/και με δυσλιπιδαιμία (πρωτοπαθή υπερχοληστερολαιμία, δηλαδή με LDL-C > 160 mg/dl, ή μικτή υπερλιπιδαιμία, δηλαδή με LDL-C > 160 mg/dl και τριγλυκερίδια > 200 mg/dl), ανάλογα με τα επιμέρους χαρακτηριστικά που εμφάνιζαν, έγιναν μελέτες παρέμβασης με φαρμακευτική αγωγή (αντι-υπερτασικά ή υπολιπιδαιμικά φάρμακα ή και συνδυασμοί τους). Συνολικά μελετήθηκαν 336 άτομα. Αναλυτικά, οι συγκρίσεις που έγιναν μεταξύ των ομάδων ήταν:

α) **Μεταβολικό σύνδρομο:**

Στη μελέτη συμμετείχαν 60 άτομα (26 άνδρες, 34 γυναίκες) που πληρούσαν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου (είχαν δηλαδή 3 ή περισσότερα από τα ακόλουθα: περιφέρεια μέσης > 102 cm στους άνδρες ή > 88 cm στις γυναίκες, τριγλυκερίδια > 150 mg/dL, HDL χοληστερόλη < 40 mg/dL στους άνδρες ή 50 mg/dL στις γυναίκες, αρτηριακή πίεση  $\geq$  130/85 mmHg και γλυκόζη νηστείας  $\geq$  110 mg/dL) και 110 άτομα (48 άνδρες, 62 γυναίκες) που δεν πληρούσαν αυτά τα κριτήρια [222,225,226]. Από τα 60 άτομα που πληρούσαν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου τα 32 είχαν 3 κριτήρια, τα 18 είχαν 4 κριτήρια και τα 10 είχαν 5 κριτήρια, ενώ από τα 110 άτομα που δεν πληρούσαν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου τα 20 δεν είχαν κανένα κριτήριο, τα 53 είχαν 1 κριτήριο και τα 37 είχαν 2 κριτήρια. Στη συνέχεια συγκρίθηκαν οι μεταβολικές παράμετροι των ατόμων που πληρούσαν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου με τις αντίστοιχες παραμέτρους των ατόμων που δεν πληρούσαν αυτά τα κριτήρια.



Ο πρωταρχικός στόχος της μελέτης ήταν η σύγκριση της ενεργότητας της PAF-AH του πλάσματος, της HDL-PAF-AH και της PON1 μεταξύ των 2 ομάδων, καθώς και η συσχέτιση της ενεργότητας αυτών των ενζύμων με τις υπόλοιπες παραμέτρους σε κάθε ομάδα.

**β) Υπερτασικοί ασθενείς:**

Μελετήθηκαν 136 ασθενείς (66 άνδρες, 70 γυναίκες) μέσης ηλικίας  $54 \pm 12$  ετών (εύρος 30-80 έτη) με ιδιοπαθή υπέρταση (συστολική αρτηριακή πίεση  $>140$  mmHg ή/και διαστολική αρτηριακή πίεση  $> 90$  mmHg). Οι υπερτασικοί ασθενείς χωρίστηκαν σε 6 υποομάδες με ανάλογη ηλικιακή κατανομή και κατανομή φύλου και έλαβαν την ακόλουθη αντι-υπερτασική αγωγή:

- υποομάδα 1, λασιδιπίνη, 4 mg την ημέρα (n=21)
- υποομάδα 2, βαλσαρτάνη, 80 mg την ημέρα (n=26)
- υποομάδα 3, ινδαπαμίδη, 2.5 mg την ημέρα (n=20)
- υποομάδα 4, μπенаζεπρίλη, 20mg την ημέρα (n=20)
- υποομάδα 5, ατενολόλη, 50 mg την ημέρα (n=34)
- υποομάδα 6, νεμπιβολόλη, 5 mg την ημέρα (n=15).

Στις υποομάδες αυτές εκτιμήθηκαν οι μεταβολές των μεταβολικών παραμέτρων πριν και μετά τη χορήγηση της αντι-υπερτασικής αγωγής. Η μελέτη ολοκληρώθηκε μετά από 9 μήνες μετά από επανέλεγχο των αντίστοιχων μεταβολικών παραμέτρων.

Ο πρωταρχικός στόχος της μελέτης ήταν η επίδραση των αντιυπερτασικών φαρμάκων στην ενζυμική ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος και της HDL-PAF-



ΑΗ. Επίσης, η μεταβολή της ενεργότητας αυτών των ενζύμων συσχετίσθηκε με τις μεταβολές των επιπέδων της αρτηριακής πίεσης και των λιπιδαιμικών παραμέτρων.

Ειδικότερα, για την άμεση σύγκριση της επίδρασης στις βιοχημικές παραμέτρους δύο διαφορετικών β-αποκλειστών σε ασθενείς με ιδιοπαθή υπέρταση και δυσλιπιδαιμία (ολική χοληστερόλη > 240 mg/dl, LDL > 190 mg/dl και τριγλυκερίδια < 500 mg/dl) χορηγήθηκε ατενολόλη (n=15) ή νεμπιβολόλη (n=15). Αρχικά οι ασθενείς έλαβαν για 4 μήνες ατενολόλη, 50 mg την ημέρα, ή νεμπιβολόλη, 5 mg την ημέρα. Στη συνέχεια, και στους 30 ασθενείς χορηγήθηκε για 5 μήνες πραβαστατίνη 40 mg την ημέρα για την αντιμετώπιση της δυσλιπιδαιμίας, ενώ παράλληλα οι ασθενείς εξακολούθησαν να παίρνουν τους β-αποκλειστές. Στο τέλος της μελέτης (μετά από 9 μήνες) έγινε νέα αιμοληψία για τον επανέλεγχο των μεταβολικών παραμέτρων.

Ο πρωταρχικός στόχος της μελέτης ήταν η επίδραση 2 διαφορετικών β-αποκλειστών (ατενολόλη, νεμπιβολόλη) και της πραβαστατίνης στο λιπιδαιμικό προφίλ, στην ομοιοστασία της γλυκόζης, στα επίπεδα του ινωδογόνου, της ομοκυστεΐνης, της κρεατινίνης και του ουρικού οξέος του ορού, καθώς και στη νεφρική απέκκριση του ουρικού οξέος.

#### γ) Δυσλιπιδαιμικοί ασθενείς:

Στη μελέτη συμμετείχαν επίσης 90 δυσλιπιδαιμικοί ασθενείς. Ανάλογα με το λιπιδαιμικό τους προφίλ, οι ασθενείς χωρίσθηκαν σε όσους εμφάνιζαν πρωτοπαθή υπερχοληστερολαιμία [LDL-C > 160 mg/dl -δυσλιπιδαιμία τύπου IIA-, n=50 (27 γυναίκες, 23 άνδρες)] και σε όσους εμφάνιζαν μικτή υπερλιπιδαιμία [LDL-C > 160 mg/dl και τριγλυκερίδια > 200 mg/dl



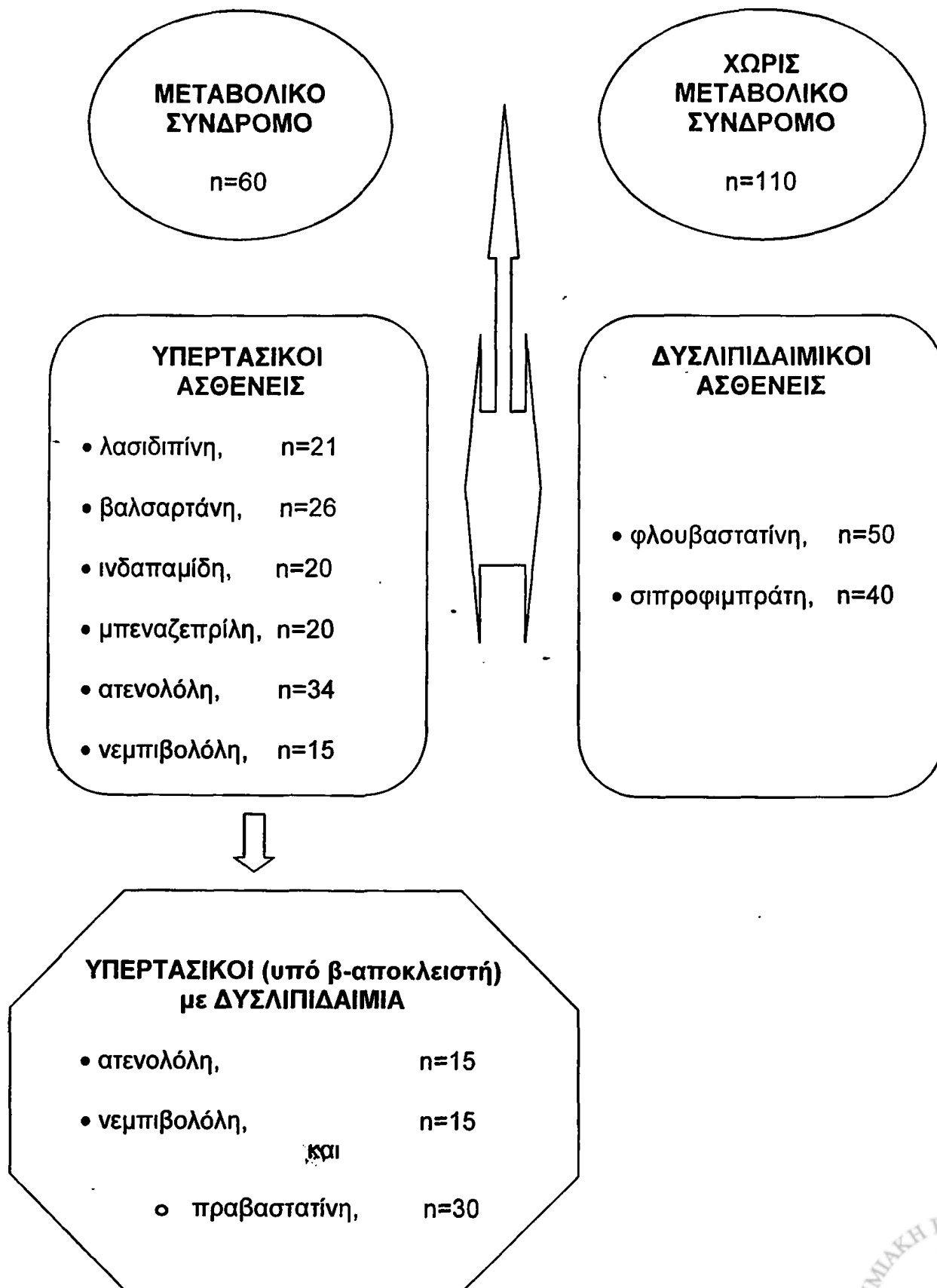
-δυσλιπιδαιμία τύπου IIB-, n=40 (22 γυναίκες, 18 άνδρες)]. Στη συνέχεια, οι ασθενείς με δυσλιπιδαιμία τύπου IIA έλαβαν 40 mg φλουβαστατίνης την ημέρα, ενώ οι ασθενείς με δυσλιπιδαιμία τύπου IIB έλαβαν 100 mg σιπροφιμπράτης την ημέρα. Μεταξύ των ομάδων δεν υπήρχαν διαφορές όσων αφορά την ηλικία και την κατανομή των φύλων. Η μελέτη ολοκληρώθηκε μετά από 9 μήνες μετά από επανέλεγχο των μεταβολικών παραμέτρων.

Ο πρωταρχικός στόχος της μελέτης ήταν η επίδραση δύο υπολιπιδαιμικών φαρμάκων που ανήκουν σε διαφορετικές κατηγορίες (στατίνη-φιμπράτη) στην ενζυμική ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος και της HDL-PAF-AH, καθώς και η συσχέτιση των μεταβολών της ενεργότητας αυτών των ενζύμων με τις αντίστοιχες μεταβολές του λιπιδαιμικού προφίλ.

Συμπερασματικά, από το σύνολο των ατόμων που συμμετείχαν στη μελέτη, συγκρίθηκαν 60 άτομα που πληρούσαν τα κριτήρια του μεταβολικού συνδρόμου με 110 άτομα που δεν πληρούσαν αυτά τα κριτήρια. Επίσης, μελετήθηκαν 136 υπερτασικοί ασθενείς πριν και μετά τη χορήγηση αντι-υπερτασικής αγωγής. Από τους τελευταίους, οι 30 ασθενείς που έλαβαν β-αποκλειστές και ταυτόχρονα είχαν δυσλιπιδαιμία έλαβαν επίσης θεραπεία με πραβαστατίνη. Τέλος, μελετήθηκαν 90 δυσλιπιδαιμικοί ασθενείς πριν και μετά τη χορήγηση υπολιπιδαιμικής αγωγής που κρίθηκε κατάλληλη για τον τύπο της δυσλιπιδαιμίας.



Συνοπτικά, το διάγραμμα ροής της μελέτης είναι το ακόλουθο:



## ΜΕΤΡΗΣΗ ΤΗΣ ΕΝΖΥΜΙΚΗΣ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑΣ (ΡΑΦ-ΑΗ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ, HDL-ΡΑΦ-ΑΗ, ΡΟΝ1) ΚΑΙ ΜΕΤΡΗΣΗ ΤΩΝ ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ

### • ΒΙΟΧΗΜΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ:

Η συγκέντρωση της ολικής χοληστερόλης και των τριγλυκεριδίων προσδιορίσθηκε με ενζυμική μέθοδο στον αναλυτή AU600 Clinical Chemistry Analyzer, Olympus Diagnostica, Hamburg, Germany. Η μέτρηση της HDL-C έγινε στο υπερκείμενο μετά από καθήλωση των Apo B λιποπρωτεϊνών με dextran sulfate-Mg (Sigma Diagnostics, St Louis, MO, USA). Ο προσδιορισμός της LDL-C έγινε με βάση την εξίσωση του Friedewald ( $LDL = TC - \text{τριγλυκερίδια}/5$ ), εφόσον τα τριγλυκερίδια ήταν  $< 350 \text{ mg/dl}$  και με άμεση μέτρηση σε δύο περιπτώσεις στις οποίες τα τριγλυκερίδια ήταν  $> 350 \text{ mg/dl}$  [263].

Ο προσδιορισμός των τιμών των απολιποπρωτεϊνών στο πλάσμα έγινε με ανοσονεφελομετρία με νεφελόμετρο BN100 (Dade Behring, Liederbach, Germany) με τη χρήση ειδικών αντισωμάτων για κάθε απολιποπρωτεΐνη. Οι συντελεστές διακύμανσης (CV) intra-assay και inter-assay της μεθόδου είναι 2.2% και 5.7% αντίστοιχα για την apo AI και 1.9% και 2.4% αντίστοιχα για την apo B. Οι μέθοδοι μέτρησης τόσο για την Apo AI όσο και για την Apo B τυποποιήθηκαν ανάλογα με τα standard της Διεθνούς Ένωση των Κλινικών Χημικών (IFCC). Τέλος, η Lp(a) μετρήθηκε με ανοσοενζυμική μέθοδο (sandwich-ELISA assay, Macra Lp(a), Temuro Medical Corporation Diagnostic Division, Elktron, MD) με τη χρήση ενός μονοκλωνικού και ενός πολυκλωνικού αντισώματος [anti-apo(a)]. Στο πρώτο στάδιο το πρώτο μονοκλωνικό αντίσωμα (αντίσωμα επίστρωσης), το οποίο δεν παρουσιάζει διασταυρούμενη αντίδραση με το πλασμινογόνο, συνδέεται με την περιοχή klinge IV της apo(a) και στη συνέχεια συνδέεται με την apo(a) το δεύτερο πολυκλωνικό



αντίσωμα, το οποίο δεν παρουσιάζει διασταυρούμενη αντίδραση με την άρο B-100. Οι συντελεστές διακύμανσης (CV) intra-assay και inter-assay της μεθόδου είναι μικρότεροι από 6% και 10.3% αντίστοιχα.

Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης της high sensitive CRP στο πλάσμα έγινε με ανοσο-νεφελομετρία υψηλής ευαισθησίας από τη Dade Behring Holding GmbH (Liederbach, Germany), με όρια αναφοράς 0.175-11 mg/l. Το ινωδογόνο υπολογίσθηκε με βάση τη μέθοδο Clauss, ενώ η ομοκυστεΐνη με ανοσο-φθορισμό με τη μέθοδο AxSYM από την Abbott GmbH, Germany. Ο βιοχημικός έλεγχος ρουτίνας στον ορό και στα ούρα (γλυκόζη, κρεατινίνη, ουρικό οξύ) έγινε με τις τυποποιημένες μεθόδους στον αναλυτή AU600 Clinical Chemistry Analyzer, Olympus Diagnostica, Hamburg, Germany. Τέλος, η ινσουλίνη μετρήθηκε με την ανοσολογική μέθοδο των μικροσωματιδίων στον αναλυτή AxSYM (Abbott Diagnostics, Abbott GmbH, Germany), ενώ ο δείκτης HOMA υπολογίσθηκε πολλαπλασιάζοντας την γλυκόζη νηστείας του ορού με την ινσουλίνη νηστείας και διαιρώντας με το 22.5 [264-266].

#### • ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ PAF-AH:

##### Αρχή της μεθόδου:

Ο υπολογισμός της ενζυμικής ενεργότητας της PAF-AH βασίζεται στη μέτρηση των ραδιοσημασμένων με [ $^3\text{H}$ ] (ραδιενεργό τρίτιο) οξικών ομάδων που απελευθερώνονται από το ένζυμο κατά την επώαση των λιποπρωτεϊνών που είναι η πηγή του ενζύμου με [ $^3\text{H}$ ]-PAF. Οι οξικές ομάδες παραμένουν στο υπερκείμενο κατά την καταβύθιση με τριχλωροξικό οξύ (TCA) του παραγόμενου lyso-PAF, καθώς και του [ $^3\text{H}$ ]-PAF που δεν διασπάσθηκε και η β ακτινοβολία που εκπέμπουν μετράται 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 ημολ του ραδιενεργού PAF που διασπάρθηκαν από το ένζυμο στη μονάδα του χρόνου από μια συγκεκριμένη ποσότητα δείγματος [264,265].

#### Υλικά και όργανα:

- Μετρητής υγρού σπινθηρισμού, Packard (TriCarb 2100 TR)
- Υδατόλουτρο 37 °C
- PAF [(1-O-εξαδεκυλο-2-ακετυλο-sn-γλυκερο-3-φωσφοχολίνη, MB: 523.7 g/mol), Sigma]. Τα 25 mg σκόνης διαλύονται σε 2.387 ml αιθανόλης 80% δίνοντας διάλυμα τελικής συγκέντρωσης 20 mM το οποίο διατηρείται στους -20°C.
- [<sup>3</sup>H]-PAF {(1-O-εξαδεκυλο-2-[<sup>3</sup>H]ακετυλο-sn-γλυκέρο-3-φωσφοχολίνη, 0.25 mCi/0.5 ml, 10 Ci/mmol), DuPont New England Nuclear, Boston, MA, USA}.
- Αλβουμίνη βοδινού ορού (BSA, Sigma)
- Τριχλωροξεικό οξύ (TCA, M.B.: 163.39, Sigma)

#### Διαλύματα εργασίας:

- 10% Na<sub>2</sub>EDTA pH 7.4: 12.824 g EDTA Na<sub>2</sub>2H<sub>2</sub>O διαλύονται σε 100ml H<sub>2</sub>O. Το διάλυμα διατηρείται στους 4°C.
- Ρυθμιστικό διάλυμα Hepes, pH 7.4: παρασκευάζεται με την ανάμιξη 4.2 mM Hepes (1.0009 g/l), 137 mM NaCl (8.0063 g/l), 2.6 mM KCl (0.1939 g/l) και 2 mM EDTA (0.7445 g/l). Το pH ρυθμίζεται με τη βοήθεια ρημέτρου στο 7.4 και το διάλυμα φυλάσσεται στους 4°C.
- BSA (Bovine serum albumin) 2.5 mg/ml: 25 mg BSA διαλύονται σε 10 ml απεσταγμένου νερού. Το διάλυμα φυλάσσεται στους -20°C.





- BSA 100 mg/ml: 1 g BSA διαλύεται σε 10 ml απεσταγμένου νερού. Το διάλυμα φυλάσσεται στους  $-20^{\circ}\text{C}$ .
- [ $^3\text{H}$ ]-PAF 100  $\mu\text{M}$ . Σε πλαστικό σωληνάκι πολυπροπυλενίου αναμιγνύονται 100  $\mu\text{l}$  PAF 20  $\mu\text{M}$  και 30  $\mu\text{l}$  [ $^3\text{H}$ ]-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  $37^{\circ}\text{C}$  για 30 λεπτά. Το διάλυμα φυλάσσεται στους  $-20^{\circ}\text{C}$ .
- TCA 20% (Τριχλωροξικό οξύ, Sigma): 20 g TCA διαλύονται σε 100 ml απεσταγμένου νερού. Το διάλυμα διατηρείται στους  $4^{\circ}\text{C}$ .
- Υγρό σπινθηρισμού Quicksafe A της Zinsser.

#### Πειραματική πορεία:

Για τη μέτρηση της ενεργότητας της PAF-AH χρησιμοποιούνται συνήθως 50  $\mu\text{l}$  πλάσματος (10  $\mu\text{l}$  πλάσματος αραιώνονται με 490  $\mu\text{l}$  ρυθμιστικού διαλύματος HEPES pH 7.4, αραιώση 1/50), ενώ για τον αντίστοιχο προσδιορισμό στην HDL χρησιμοποιούνται 50  $\mu\text{l}$  από το αραιωμένο υπερκείμενο του ορού (50  $\mu\text{l}$  του υπερκείμενου μετά την καταβύθιση της HDL αραιώνονται με 100  $\mu\text{l}$  ρυθμιστικού διαλύματος HEPES 7.4, αραιώση 1/3) μετά την καταβύθιση των λιποπρωτεϊνών που περιέχουν apoB με θειικό μαγνήσιο-δεξτράνη. Και στα 2 παραπάνω δείγματα προστίθεται διάλυμα HEPES μέχρι τελικού όγκου 90  $\mu\text{l}$ . 90  $\mu\text{l}$  από τα δείγματα τοποθετούνται σε πλαστικό σωληνάκι erpendorf. Παράλληλα ετοιμάζεται και ένα δείγμα ελέγχου (τυφλό), όπου αντί για λιποπρωτεΐνη προστίθεται 90  $\mu\text{l}$  από το ρυθμιστικό διάλυμα HEPES, pH 7.4. Στη συνέχεια τα δείγματα αναδεύονται ήπια και τοποθετούνται σε υδατόλουτρο όπου επωάζονται για 10 λεπτά στους  $37^{\circ}\text{C}$ . Στο τέλος



αυτού του χρονικού διαστήματος η αντίδραση τερματίζεται με την προσθήκη 20 μl BSA 100 mg/ml (η οποία δεσμεύει την περίσσεια του PAF που δεν αντέδρασε, καθώς και τον lyso-PAF). Ακολουθεί ανάδευση σε vortex και τοποθέτηση των δειγμάτων σε παγόλουτρο για τουλάχιστον 12 λεπτά. Έπειτα προστίθενται 80 μl TCA 20%, τα δείγματα αναδεύονται ισχυρά σε vortex και τοποθετούνται σε παγόλουτρο για άλλα 30 λεπτά. Στη συνέχεια τα σωληνάκια φυγοκεντρώνονται σε μικροφυγόκεντρο για erpendorfs (5 λεπτά στις 10.000 στροφές) προκειμένου να καταβυθισθούν 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. Επιπρόσθετα, μαζί με τα δείγματα τοποθετούνται στο μετρητή σπινθηρισμού και δύο σωληνάκια τα οποία περιέχουν υγρό σπινθηρισμού, καθώς και 10 μl [<sup>3</sup>H]-PAF 100 μM. Το πηλίκο του μέσου όρου των κρούσεων που προέρχονται από αυτά τα σωληνάκια (standard) δια του αριθμού των nmol [<sup>3</sup>H]-PAF 100 μM που περιέχονται στο κάθε σωληνάκι αποτελούν την ειδική ενεργότητα (E.E) του διαλύματος του PAF, δηλαδή τον αριθμό των κρούσεων που αποδίδει κάθε nmol [<sup>3</sup>H]-PAF 100 μM στις συγκεκριμένες πειραματικές συνθήκες. Η ενεργότητα της PAF-AH 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:

$$\text{Ενεργότητα PAF-AH (nmol/ml ορού ή HDL/min)} = 2 * (c_{pm_6} - c_{pm_7}) * 1000 / E.E * \alpha * \beta$$

όπου:  $c_{pm_6}$  είναι οι κρούσεις που αποδίδουν τα 100 μl κάθε δείγματος



$cpm_T$  είναι οι κρούσεις που αποδίδουν τα 100 μl του τυφλού (δείγμα ελέγχου)

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

α είναι ο χρόνος επώασης του δείγματος σε λεπτά

β είναι τα μl του πλάσματος ή της HDL

1000 είναι ο συντελεστής για τη μετατροπή των μl σε ml

#### • ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ PON1:

##### Υλικά και όργανα:

- Microelisa φασματοφωτόμετρο (SpectraMax 190, Molecular Devices).
- Παραοxon (Διαιθυλ-π-νιτροφαινυλοφωσφορικό οξύ, MB: 275.2, Sigma).
- Phenyl acetate (Φαινυλοξικό, MB: 136.15, Aldrich).
- $CaCl_2$  (Χλωριούχο ασβέστιο, MB: 111, Sigma).
- Tris-HCl (Τρίς-υδροξυμεθυλαμινομεθάνιο, MB: 157.6, Sigma).
- Κυψελίδα Elisa (96 θέσεων).

##### Διαλύματα εργασίας:

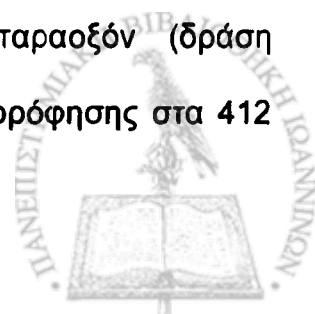
- Διάλυμα 1M Tris HCL: 15.76 g Tris HCL διαλύονται σε 100 ml  $H_2O$  και το pH ρυθμίζεται στο 8. το διάλυμα φυλάσσεται στους 4 °C.
- Διάλυμα 100 mM  $CaCl_2$ : 1.11 g  $CaCl_2$  διαλύονται σε 100 ml  $H_2O$  και το διάλυμα φυλάσσεται στους 4 °C.



- Ρυθμιστικό διάλυμα παραοξονάσης: Περιέχει 100 mM Tris-HCl και 2 mmol/L CaCl<sub>2</sub>. 10 ml διαλύματος 1M Tris HCL αναμιγνύονται με 2 ml διαλύματος 100 mM CaCl<sub>2</sub> και ο υπόλοιπος όγκος μέχρι τα 100 ml συμπληρώνεται με H<sub>2</sub>O. Το διάλυμα φυλάσσεται στους 4 °C, αλλά η θερμοκρασία του κατά την έναρξη της πειραματικής διαδικασίας πρέπει να είναι στους 25 °C. Το pH του διαλύματος ρυθμίζεται στο 8.0. Για την παρασκευή του υποστρώματος αντίδρασης προστίθεται τόση ποσότητα παραοξονάσης σε ανάλογο όγκο ρυθμιστικού διαλύματος έτσι ώστε η τελική συγκέντρωση του διαλύματος να είναι 6.11 mM.
- Ρυθμιστικό διάλυμα αρυλεστεράσης: Περιέχει 20 mM Tris-HCl και 2 mmol/L CaCl<sub>2</sub>. 2 ml διαλύματος 1M Tris HCL αναμιγνύονται με 2 ml διαλύματος 100 mM CaCl<sub>2</sub> και ο υπόλοιπος όγκος μέχρι τα 100 ml συμπληρώνεται με H<sub>2</sub>O. Το διάλυμα φυλάσσεται στους 4 °C, αλλά η θερμοκρασία του κατά την έναρξη της πειραματικής διαδικασίας πρέπει να είναι στους 25 °C. Το pH του διαλύματος ρυθμίζεται στο 8.0. Για την παρασκευή του υποστρώματος αντίδρασης αναμιγνύουμε 10 ml του παραπάνω ρυθμιστικού με 1.6 ml φαινυλ-οξικού. Το υπόστρωμα παρασκευάζεται ακριβώς πριν την έναρξη της πειραματικής διαδικασίας.

Η ενεργότητα της παραοξονάσης 1 προσδιορίσθηκε έχοντας ως υπόστρωμα είτε το παραοξόν (PON1 ενεργότητα) είτε το φαινυλοξικό (ενεργότητα αρυλεστεράσης).

Για τη μέτρηση της ενεργότητας της παραοξονάσης 1 ως προς το παραοξόν τοποθετήθηκαν σε κάθε θέση της πλάκας elisa 250 ml που αποτελούνταν από 25 ml ορού και 225 ml ρυθμιστικού διαλύματος παραοξονάσης παρουσία παραοξόν τελικής συγκέντρωσης 5.5 mmol/L. Ο ρυθμός υδρόλυσης του παραοξόν (δράση παραοξονάσης) μετρήθηκε καταγράφοντας την αύξηση της απορρόφησης στα 412



nm, στους 25 °C για 1.5 λεπτό στο microelisa φασματοφωτόμετρο. Στη συνέχεια υπολογίσθηκε η ποσότητα της π-νιτροφαινόλης (p-nitrophenol) που σχηματίσθηκε χρησιμοποιώντας τον συντελεστή μοριακής απόσβεσης  $17,000 \text{ (mol/l)}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ . Η ενεργότητα της PON1 εκφράζεται σε U/L ορού ορίζοντας τη 1U (διεθνής μονάδα) σαν το 1 μmol του p-nitrophenol που σχηματίζεται ανά λεπτό.

Για τη μέτρηση της ενεργότητας της παραοξονάσης 1 ως προς το φαινυλοξικό οξύ (ενεργότητα αρυλεστεράσης) τοποθετήθηκαν σε κάθε θέση της πλάκας elisa 250 μl που αποτελούνταν από 50 μl αραιωμένου ορού (1/100 v/v σε ρυθμιστικό διάλυμα αρυλεστεράσης) και 200 μl ρυθμιστικού διαλύματος αρυλεστεράσης παρουσία φαινυλοξικού οξέος τελικής συγκέντρωσης 1mmol/l. Ο ρυθμός υδρόλυσης του φαινυλοξικού μετρήθηκε καταγράφοντας την αύξηση της απορρόφησης στα 270 nm, στους 25 °C για 1.5 λεπτό με microelisa φασματοφωτόμετρο. Η ενεργότητα της αρυλεστεράσης υπολογίσθηκε χρησιμοποιώντας το συντελεστή μοριακής απόσβεσης  $1310 \text{ (mol/l)}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  και εκφράζεται σε U/ml, όπου 1 U ορίζεται το 1 μmol του φαινυλοξικού που υδρολύεται στο λεπτό [264,265].



# ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η περιγραφή των παραμέτρων και των αποτελεσμάτων της ανάλυσης έγινε με περιγραφικά χαρακτηριστικά (descriptive statistics), όπως η μέση τιμή (mean) και η σταθερή απόκλιση (standard deviation - SD), ή η διάμεση τιμή (median) και το ενδοτεταρτημοριακό εύρος (interquartile range - IQR), ανάλογα με την κατανομή της μεταβλητής. Για την περιγραφή των διαφορών παρατίθενται τα 95% διαστήματα εμπιστοσύνης (95% CI). Οι συνεχείς μεταβλητές αρχικά εξετάσθηκαν για την κανονικότητα της κατανομής τους με τη στατιστική δοκιμασία Kolmogorov-Smirnov. Για όσες από τις μεταβλητές η παρατηρούμενη κατανομή δεν ήταν κανονική, έγινε λογαριθμική μετατροπή των τιμών τους.

## **1. Μεταβολικό σύνδρομο:**

Η σύγκριση μεταξύ των ατόμων που πληρούσαν τα κριτήρια και των ατόμων που δεν πληρούσαν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου έγινε ανάλογα με τη στατιστική δοκιμασία t-test ή με τη μη-παραμετρική δοκιμασία Mann-Whitney.

Η σύγκριση της ενεργότητας των ενζύμων PAF-AH του πλάσματος, HDL-PAF-AH και PON1, αλλά και των επιπέδων της Apo E, ανάλογα με τον αριθμό των κριτηρίων για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου, έγινε με βάση την ανάλυση της διακύμανσης σε μία διεύθυνση (one way analysis of variance - ANOVA) ή με τη μη-παραμετρική δοκιμασία Kruskal-Wallis.

Για να διερευνήσουμε τις παραμέτρους που θα μπορούσαν να προβλέψουν τις μεταβολές της ενεργότητας των ενζύμων PAF-AH του πλάσματος, HDL-PAF-AH και PON1, όπως επίσης και των επιπέδων της Apo E, τόσο στα άτομα με το μεταβολικό σύνδρομο όσο και στα άτομα που δεν πληρούσαν τα κριτήρια του μεταβολικού



συνδρόμου, δημιουργήθηκαν και αναλύθηκαν μοντέλα γραμμικών συναρτήσεων (linear regression). Οι μεταβλητές που εξετάστηκαν για την πιθανή συσχέτισή τους με την ενεργότητα των ενζύμων PAF-AH του πλάσματος, HDL-PAF-AH και PON1, όπως και για τα επίπεδα της Apo E, ήταν οι ακόλουθες: η ηλικία, το βάρος, ο δείκτης μάζας σώματος, η περιφέρεια της μέσης, η συστολική και η διαστολική αρτηριακή πίεση, το σάκχαρο και η ινσουλίνη του ορού, ο δείκτης HOMA, το ουρικό οξύ του ορού, καθώς και τα επίπεδα των λιπιδίων και απολιποπρωτεϊνών του ορού. Αρχικά πραγματοποιήθηκαν μονοπαραγοντικές αναλύσεις (univariate linear regression) και μόνο για όσες από τις μεταβλητές υπήρχε στατιστικά σημαντική συσχέτιση με τις εξεταζόμενες παραμέτρους (PAF-AH, HDL-PAF-AH, PON1, Apo E) έγινε περαιτέρω μελέτη με πολυπαραγοντικά μοντέλα (multivariate linear regression) με τη μέθοδο της εμπρόσθιας επιλογής των μεταβλητών κατά βήματα (forward stepwise selection of variables). Με βάση την πολυπαραγοντική ανάλυση οι παράμετροι που συσχετίζονται στατιστικά σημαντικά με τις εξεταζόμενες μπορούν, κατά τρόπο ανεξάρτητο, να προβλέψουν τη μεταβολή των τιμών των εξεταζόμενων παραμέτρων, δηλαδή της ενεργότητας της PAF-AH του πλάσματος, της HDL-PAF-AH και της PON1, καθώς και των επιπέδων της Apo E.

Επίσης, με τη δημιουργία μοντέλων γραμμικών συναρτήσεων (linear regression models) εξετάστηκε η πιθανή συσχέτιση μεταξύ της ενεργότητας των ενζύμων PAF-AH του πλάσματος, HDL-PAF-A και PON1, καθώς και των επιπέδων της Apo E με τον αριθμό των μεταβολικών κριτηρίων [264].



## 2. Υπερτασικοί - δυσλιπιδαιμικοί ασθενείς:

Σε κάθε ομάδα ασθενών συμπεριλήφθηκαν τουλάχιστον 15 ασθενείς, έτσι ώστε να μπορεί, με στατιστική ισχύ  $> 80\%$ , να ανιχνευθεί διαφορά 1 σταθερής απόκλισης (5% αμφοτερόπλευρος κίνδυνος) στην ενζυμική ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος.

Η σύγκριση πριν και μετά τη θεραπεία των τιμών των μεταβλητών που εμφάνιζαν κανονική κατανομή με βάση τη στατιστική δοκιμασία Kolmogorov-Smirnov έγινε με τη στατιστική δοκιμασία t-test ανά ζεύγη (paired Student's t-test), ενώ για τις μεταβλητές που δεν είχαν κανονική κατανομή [CRP, ομοκυστεΐνη, ινωδογόνο, Lp(a)] η σύγκριση έγινε με τη μη-παραμετρική δοκιμασία κατά Wilcoxon (Wilcoxon signed rank test).

Για τη διόρθωση των τιμών των παραμέτρων λαμβάνοντας υπόψη τις διαφορές των αρχικών τιμών τους μεταξύ των διαφόρων υποομάδων και την αποφυγή του φαινομένου παλινδρόμησης προς τη μέση τιμή (regression to the mean), η σύγκριση των μεταβολών των παραμέτρων μεταξύ των υποομάδων έγινε με ανάλυση της συνδιακύμανσης λαμβάνοντας υπόψη τις αρχικές τιμές (analysis of covariance taking into account the baseline values as a covariate - ANCOVA).

Για να διερευνήσουμε τις παραμέτρους που θα μπορούσαν να προβλέψουν τις μεταβολές στις τιμές της ενεργότητας της PAF-AH και της HDL-PAF-AH στις ομάδες των υπερτασικών ή των δυσλιπιδαιμικών ασθενών, δημιουργήθηκαν μοντέλα γραμμικών συναρτήσεων (linear regression). Οι μεταβλητές που εξετάστηκαν για την πιθανή συσχέτισή τους με την ενεργότητα των ενζύμων PAF-AH του πλάσματος και HDL-PAF-AH ήταν η ηλικία, το βάρος, ο δείκτης μάζας σώματος, η περιφέρεια της μέσης και το φύλο.

Αρχικά πραγματοποιήθηκαν μονοπαραγοντικές αναλύσεις και ακολούθως οι μεταβλητές που συσχετιζόνταν στατιστικά σημαντικά με τις εξεταζόμενες παραμέτρους (PAF-AH και HDL-PAF-AH) μελετήθηκαν σε πολυπαραγοντικά μοντέλα





με τη μέθοδο της εμπρόσθιας επιλογής των μεταβλητών κατά βήματα (forward stepwise selection of variables) [265,266].

Όλες οι στατιστικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με το στατιστικό πακέτο SPSS 12.0 (SPSS Inc., Chicago, IL). Για όλους τους υπολογισμούς ποσοστών, τα 95% όρια εμπιστοσύνης αναφέρονται στην διωνυμική κατανομή. Τα αναφερόμενα επίπεδα σημαντικότητας είναι αμφοτερόπλευρα.



## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### Μεταβολικό σύνδρομο:

- *Χαρακτηριστικά των ασθενών που συμμετείχαν – Σύγκριση των δύο ομάδων:*

Τα κλινικά χαρακτηριστικά και οι βιοχημικές παράμετροι φαίνονται στον Πίνακα 4. Όπως ήταν αναμενόμενο, τα άτομα που πληρούσαν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου είχαν μεγαλύτερο σωματικό βάρος και δείκτη μάζας σώματος (BMI), μεγαλύτερη περίμετρο μέσης και υψηλότερες τιμές αρτηριακής πίεσης (συστολικής και διαστολικής), γλυκόζης, ινσουλίνης, δείκτη HOMA, τριγλυκεριδίων, ουρικού οξέως και Apo B, ενώ είχαν μικρότερες τιμές HDL-C και Apo A1 σε σύγκριση με τα άτομα που δεν πληρούσαν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου. Επιπρόσθετα, τα επίπεδα της Apo E ήταν υψηλότερα στους ασθενείς με το μεταβολικό σύνδρομο, ενώ δεν υπήρχε διαφορά στα επίπεδα τόσο της TC, όσο και της LDL-C μεταξύ των 2 ομάδων.

Όπως φαίνεται στον ίδιο πίνακα, στους ασθενείς με το μεταβολικό σύνδρομο η ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος ήταν αυξημένη, όπως άλλωστε αυξημένος ήταν και ο λόγος της ενεργότητας της PAF-AH του πλάσματος προς την LDL-C (PAF-AH/LDL-C) σε σύγκριση με τα άτομα που δεν πληρούσαν τα κριτήρια του μεταβολικού συνδρόμου. Αντίθετα, η ενεργότητα της HDL-PAF-AH και της PON1 ήταν μικρότερες στους ασθενείς με το μεταβολικό σύνδρομο σε σύγκριση με τα άτομα που δεν πληρούσαν τα κριτήρια του μεταβολικού συνδρόμου. Επίσης, δεν παρατηρήθηκε καμία διαφορά στο λόγο της ενεργότητας της PAF-AH του πλάσματος προς την



Αρο Β (PAF-AH/Αρο Β), της PON1 προς την HDL-C (PON1/HDL-C), καθώς και της PON1 προς την Αρο ΑΙ (PON1/Αρο ΑΙ) μεταξύ των 2 ομάδων.

Η σύγκριση της ενεργότητας της PAF-AH του πλάσματος, της HDL-PAF-AH και της PON1, καθώς και των επιπέδων της Αρο Ε μεταξύ των υποομάδων που δημιουργήθηκαν ανάλογα με τον αριθμό των κριτηρίων που χρησιμοποιούνται για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου (από 0 έως 5) έδειξε ότι υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος, της HDL-PAF-AH αλλά και των επιπέδων της Αρο Ε μεταξύ των διαφόρων υποομάδων. Επιπρόσθετα, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική τάση αύξησης (linear trend) της ενεργότητας της PAF-AH του πλάσματος και μείωση της HDL-PAF-AH ανάλογα με τον αριθμό των κριτηρίων που χρησιμοποιούνται για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου ( $p=0.002$  για την PAF-AH και  $p=0.008$  για την HDL-PAF-AH) (Εικόνες 8-11).

- **Μοντέλα πρόβλεψης (predictive modeling):**

Στη μονοπαραγοντική ανάλυση (univariate regression analysis) στην ομάδα των ατόμων που πληρούσαν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ της ενεργότητας της log PAF-AH του πλάσματος και των επιπέδων της συστολικής αρτηριακής πίεσης και της Αρο Ε, πέρα από την αναμενόμενη συσχέτιση με τα επίπεδα της Αρο Β, της TC, της LDL-C και της non-HDL-C. Επίσης, στη μονοπαραγοντική ανάλυση, η ενεργότητα της HDL-PAF-AH συσχετιζόταν αρνητικά με τα επίπεδα της ινσουλίνης και με το δείκτη HOMA, πέρα από την αναμενόμενη συσχέτιση της με τα τριγλυκερίδια και το λόγο των τριγλυκεριδίων προς την HDL-C (TG/HDL-C) (Πίνακας 5). Πρέπει να επισημανθεί το γεγονός ότι τόσο η θετική συσχέτιση της ενεργότητας της PAF-AH του πλάσματος με τη συστολική αρτηριακή πίεση, όσο και η αρνητική συσχέτιση της



ενεργότητας της HDL-PAF-AH με το δείκτη HOMA παρέμειναν στατιστικά σημαντικές και κατά την πολυπαραγοντική ανάλυση των δεδομένων (multivariate regression analysis) (Πίνακας 7).

Στην ομάδα των ατόμων που δεν πληρούσαν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου, η ενεργότητα της log PAF-AH του πλάσματος συσχετιζονταν με τα επίπεδα της Apo E, καθώς και με το ουρικό οξύ του ορού και τις τιμές των λιπιδαιμικών παραμέτρων, δηλαδή με τις τιμές της TC, της HDL-C, της LDL-C, της non HDL-C, των τριγλυκεριδίων, του λόγου TG/HDL-C και των επιπέδων της Apo B, ενώ η ενεργότητα της HDL-PAF-AH συσχετιζονταν με τα τριγλυκερίδια, το ουρικό οξύ, την non HDL-C και το λόγο TG/HDL-C (Πίνακας 6).

Στην πολυπαραγοντική ανάλυση στην ομάδα που δεν πληρούσε τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου επιβεβαιώθηκαν οι αναμενόμενες συσχετίσεις της ενεργότητας της log PAF-AH του πλάσματος με τις τιμές της LDL-C και της HDL-C, καθώς και της ενεργότητας της HDL-PAF-AH με τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων (Πίνακας 8).

Επιπρόσθετα, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ της ενεργότητας της PAF-AH του πλάσματος (beta: 0.03, 95% CI: 0.01/ 0.04,  $p=0.001$ ), της ενεργότητας της HDL-PAF-AH (beta: -0.17, 95% CI: -0.29/-0.49,  $p=0.001$ ) και των επιπέδων της Apo E (beta: 2.58, 95% CI: 1.33/3.84,  $p<0.001$ ) με τον αριθμό των κριτηρίων που χρησιμοποιούνται για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου.

Αντίθετα, δεν παρατηρήθηκε καμία συσχέτιση της ενεργότητας της PON1 με τις υπόλοιπες παραμέτρους, τόσο στα άτομα που πληρούσαν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου, όσο και στα άτομα που δεν πληρούσαν αυτά τα κριτήρια (Πίνακες 5,6).



Πίνακας 4: Χαρακτηριστικά των ατόμων που πληρούσαν (n=60) ή δεν πληρούσαν (n=110) τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου.

	Μεταβολικό σύνδρομο	Όχι Μεταβολικό σύνδρομο	% Διαφορά	P value	95% CI
Ανδρες/Γυναίκες	26/34	48/62		NS	
Ηλικία	56 ± 10,9	53 ± 11.2	-5	NS	-6/0.6
Βάρος (kg)	78 ± 12	72 ± 11	-8	0.001	-9/-2
Ύψος (cm)	165 ± 9.3	165 ± 8.4	0	NS	-3/3
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	28.8 ± 3.9	26.3 ± 3.5	-8	<0.001	-3/-1
Περίμετρος μέσης (cm)	99 ± 9	92 ± 10.8	-7	<0.001	-10/-3
SBP (mmHg)	159 ± 16.5	150 ± 25	-5	0.006	-14/-1
DBP (mmHg)	97 ± 8.9	90 ± 12.9	-8	<0.001	-10/-3
Ινσουλίνη (μU/mL)	10.5 ± 4.7	8 ± 3.7	-25	<0.001	-4/-1
Γλυκόζη (mg/dL)	103 ± 22	95 ± 8.8	-9	<0.001	-14/-4
HOMA	49 ± 22.2	34 ± 16.6	-30	<0.001	-20/-9
TC (mg/dL)	245 ± 58	233 ± 43	-4	NS	-27/4
TG (mg/dL)	166 ± 75	104 ± 41	-36	<0.001	-77/-40
HDL-C (mg/dL)	38 ± 7.4	51 ± 11.8	+34	<0.001	10/16
LDL-C (mg/dL)	174 ± 55	161 ± 38	-8	NS	-27/1
Non HDL-C (mg/dL)	207 ± 59	182 ± 42	-12	0.002	-40/-10
TG/HDL-C	4.7 ± 2.6	2.3 ± 1.5	-51	<0.001	-3/-2
Apo AI (mg/dL)	136 ± 20	154 ± 24	+14	<0.001	12/27
Apo B (mg/dL)	128 ± 32	112 ± 25	-12	0.001	-24/-6
Apo E (mg/dL)	4.6 ± 1.2	4.0 ± 0.95	-13	0.004	-0.9/-0.2
Ουρικό οξύ (mg/dL)	5 ± 1.5	4.5 ± 1.4	-10	0.03	-1/-0.06
PAF-AH πλάσματος (nmol/ml/min)	59 (50-73)	49 (42-60)	-17	<0.001	
HDL-PAF-AH (nmol/ml/min)	2.9 ± 1.1	3.3 ± 0.9	+10	0.03	0.009/0.7
PON1 (nmol/ml/min)	61 ± 29	85 ± 54	+42	0.04	-11/21
Aryl	76 ± 26	81 ± 31	+7	NS	-17/16
Plasma PAFAH/LDL-C	0.38 (0.28- 0.45)	0.31 (0.27- 0.37)	-18	0.004	
Plasma PAFAH/Apo B	0.5 (0.4-0.6)	0.45 (0.4- 0.53)	-10	NS	
PON1/HDL-C	1.68 ± 0.8	1.69 ± 1.1	+0.6	NS	-0.5/0.48
PON1/Apo AI	0.47 ± 0.2	0.55 ± 0.37	+17	NS	-0.25/0.07
Αριθμός κριτηρίων ΜΣ					
0		20			
1		53			
2		37			
3	32				
4	18				
5	10				



BMI: δείκτης μάζας σώματος (Βάρος/Υψος<sup>2</sup>), SBP: συστολική αρτηριακή πίεση, DBP: διαστολική αρτηριακή πίεση, HOMA: homeostasis model assessment index, TC: ολική χοληστερόλη, TG: τριγλυκερίδια, HDL-C: χοληστερόλη των υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, LDL-C: χοληστερόλη των χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, Non HDL-C: TC - HDL-C, Apo AI, Apo B, Apo E: απολιποπρωτεΐνες AI, B, E, ArgI: PON1 δράση ως αρυλ-εστεράση.

Αναφέρονται οι μέσες τιμές ± σταθερές αποκλίσεις (SD), εκτός από την ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος, το λόγο PAF-AH/LDL-C και το λόγο PAF-AH/Apo B (διάμεση τιμή με το ενδοτεταρτημοριακό εύρος -IQR).

NS: όχι στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα, CI: διαστήματα εμπιστοσύνης.



**Πίνακας 5: Μονοπαραγοντική ανάλυση συσχέτισης της ενεργότητας της PAF-AH του πλάσματος, της HDL-PAF-AH και της PON1 στα άτομα που πληρούσαν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου.**

	log PAF-AH πλάσματος			HDL-PAF-AH			PON1		
	beta	P value	95% CI	beta	P value	95% CI	beta	P value	95% CI
Ηλικία	0.003	NS	-0.001/0.006	-0.007	NS	-0.04/0.03	0.01	NS	-1.4/1.4
Βάρος	-0.001	NS	-0.004/0.002	-0.001	NS	-0.03/0.03	0.06	NS	-1/1.1
Ύψος	0.002	NS	-0.002/0.007	0.004	NS	-0.04/0.04	0.5	NS	-1.1/2.1
BMI	-0.007	NS	-0.02/0.002	-0.01	NS	-0.1/0.1	-0.4	NS	-3.9/3.1
Περίμετρος μέσης	0.001	NS	-0.004/0.005	0.001	NS	-0.04/0.04	-0.2	NS	-1.5/1.2
SBP	0.004	<b>0.006</b>	0.001/0.006	0.01	NS	-0.02/0.04	0.6	NS	-0.3/1.4
DBP	0.002	NS	-0.002/0.006	0.03	NS	-0.01/0.06	1.1	NS	-0.05/2.3
Ινσουλίνη	-0.007	NS	-0.02/0.001	-0.08	<b>0.02</b>	-0.2/-0.005	0.2	NS	-2.5/3
Γλυκόζη	<0.001	NS	-0.001/0.002	-0.006	NS	-0.02/0.008	-0.2	NS	-0.6/0.2
HOMA	-0.001	NS	-0.003/0.001	-0.02	<b>0.01</b>	-0.03/-0.004	-0.02	NS	-0.7/0.7
TC	0.001	<b>0.04</b>	0.001/0.002	0.004	NS	-0.003/0.01	0.08	NS	-0.2/0.3
TG	<0.001	NS	-0.001/0.001	-0.005	<b>0.02</b>	-0.01/-0.001	0.04	NS	-0.2/0.2
HDL-C	<0.001	NS	-0.005/0.006	0.05	NS	-0.007/0.1	0.3	NS	-1.4/2
LDL-C	0.001	<b>0.01</b>	0.001/0.002	0.005	NS	-0.002/0.01	0.08	NS	-0.2/0.4
Non HDL-C	0.001	<b>0.04</b>	0.001/0.002	0.003	NS	-0.004/0.01	0.08	NS	-0.2/0.3
TG/HDL-C	-0.008	NS	-0.003/0.002	-0.2	<b>0.003</b>	-0.4/-0.08	-0.02	NS	-6/6
Απο AI	-0.001	NS	-0.6/0.3	0.004	NS	-0.02/0.022	0.02	NS	-0.6/0.6
Απο B	0.002	<b>0.02</b>	0.001/0.003	0.007	NS	-0.005/0.02	0.1	NS	-0.3/0.6
Απο E	0.004	<b>0.04</b>	0.001/0.008	-0.03	NS	-0.07/0.02	-0.2	NS	-1.9/1.5
Ουρικό οξύ	0.02	NS	-0.01/0.04	-0.1	NS	-0.3/0.1	1.5	NS	-6/9
log PAF-AH πλάσματος							32	NS	-102/165
HDL-PAF-AH							3.2	NS	-11/-18
PON1	<0.001	NS	-0.001/0.002	0.004	NS	-0.01/0.02			
AryI	-0.001	NS	-0.002/0.001	-0.005	NS	-0.03/0.02			
PON1/HDL-C	0.01	NS	-0.04/0.07	-0.1	NS	-0.7/0.4			
PON1/Απο AI	0.05	NS	-0.14/0.24	0.4	NS	-1.6/2.4			

BMI: δείκτης μάζας σώματος (Βάρος/Ύψος<sup>2</sup>), SBP: συστολική αρτηριακή πίεση, DBP: διαστολική αρτηριακή πίεση, HOMA: homeostasis model assessments index, TC: ολική χοληστερόλη, TG: τριγλυκερίδια, HDL-C: χοληστερόλη των υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, LDL-C: χοληστερόλη των χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, Non HDL-C: TC - HDL-C, Απο AI, Απο B, Απο E: απολιποπρωτεΐνες AI, B, E, AryI: PON1 δράση ως αρυλ-εστεράση.

beta: μη προτυπομένος συντελεστής β, CI: διαστήματα εμπιστοσύνης.  
NS: όχι στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα.



**Πίνακας 6:** Μονοπαραγοντική ανάλυση συσχέτισης της ενεργότητας της PAF-AH του πλάσματος, της HDL-PAF-AH και της PON1 στα άτομα που δεν πληρούσαν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου.

	log PAF-AH πλάσματος			HDL-PAF-AH			PON1		
	beta	P value	95% CI	beta	P value	95% CI	beta	P value	95% CI
Ηλικία	0.002	NS	0.001/0.003	-0.005	NS	-0.02/0.01	0.3	NS	-0.9/1.5
Βάρος	<0.001	NS	-0.002/0.003	-0.002	NS	-0.02/0.01	0.6	NS	-0.8/2
Ύψος	<0.001	NS	-0.003/0.003	-0.02	NS	-0.04/0.005	-0.3	NS	-1.9/1.3
BMI	0.001	NS	-0.006/0.008	0.01	NS	-0.03/0.06	3	NS	-1.6/7.6
Περίμετρος μέσης	<0.001	NS	-0.002/0.003	-0.001	NS	-0.02/0.02	0.5	NS	-1/2
SBP	<0.001	NS	-0.001/0.001	0.0001	NS	-0.008/0.007	0.2	NS	-0.3/0.7
DBP	<0.001	NS	-0.002/0.002	-0.004	NS	-0.02/0.01	0.2	NS	-0.9/1.2
Ινσουλίνη	0.002	NS	-0.005/0.008	-0.003	NS	-0.05/0.04	-0.9	NS	-5/3.3
Γλυκόζη	0.001	NS	-0.002/0.003	-0.02	NS	-0.03/0.002	0.02	NS	-1.7/1.8
HOMA	<0.001	NS	-0.001/0.002	-0.003	NS	-0.01/0.007	-0.2	NS	-1.1/0.8
TC	0.001	<b>&lt;0.001</b>	0.001/0.002	-0.004	NS	-0.008/0.001	0.3	NS	-0.1/0.6
TG	0.001	<b>0.007</b>	0.001/0.002	-0.008	<b>&lt;0.001</b>	-0.01/-0.003	0.05	NS	-0.4/0.5
HDL-C	-0.002	<b>0.01</b>	-0.004/-0.001	0.01	NS	-0.002/0.03	1	NS	-0.2/2.2
LDL-C	0.002	<b>&lt;0.001</b>	0.001/0.002	-0.003	NS	-0.008/0.001	0.2	NS	-0.2/0.6
Non HDL-C	0.001	<b>&lt;0.001</b>	0.001/0.002	-0.005	<b>0.02</b>	-0.009/-0.001	0.2	NS	-0.2/0.6
TG/HDL-C	0.03	<b>0.002</b>	0.01/0.04	-0.2	<b>&lt;0.001</b>	-0.3/-0.09	-6.8	NS	-22/8
Απο AI	-0.001	NS	-0.002/0.001	0.005	NS	-0.003/0.01	0.3	NS	-0.3/1
Απο B	0.003	<b>&lt;0.001</b>	0.002/0.003	-0.006	NS	-0.01/0.001	0.3	NS	-0.3/1
Απο E	0.003	<b>0.04</b>	0.001/0.005	-0.005	NS	-0.03/0.02	0.2	NS	-1.6/2
Ουρικό οξύ	0.02	<b>0.005</b>	0.007/0.04	-0.1	<b>0.05</b>	0.01/0.09	-3.8	NS	-15/8
log PAF-AH πλάσματος							-35	NS	-169/98
HDL-PAF-AH							-4.5	NS	-26/17
PON1	<0.001	NS	-0.001/0.001	0.001	NS	-0.003/0.005			
Aryl	<0.001	NS	-0.001/0.001	0.002	NS	-0.005/0.009			
PON1/HDL-C	0.002	NS	-0.02/0.03	-0.04	NS	-0.3/0.2			
PON1/Απο AI	-0.01	NS	-0.09/0.07	-0.09	NS	-0.7/0.6			

BMI: δείκτης μάζας σώματος (Βάρος/Ύψος<sup>2</sup>), SBP: συστολική αρτηριακή πίεση, DBP: διαστολική αρτηριακή πίεση, HOMA: homeostasis model assessments index, TC: ολική χοληστερόλη, TG: τριγλυκερίδια, HDL-C: χοληστερόλη των υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, LDL-C: χοληστερόλη των χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, Non HDL-C: TC - HDL-C, Απο AI, Απο B, Απο E: απολιποπρωτεΐνες AI, B, E, Aryl: PON1 δράση ως αρυλ-εστεράση.

beta: μη προτυπομένος συντελεστής β, CI: διαστήματα εμπιστοσύνης.  
NS: όχι στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα.





**Πίνακας 7:** Πολυπαραγοντική ανάλυση συσχέτισης της ενεργότητας της PAF-AH του πλάσματος και της HDL-PAF-AH στα άτομα που πληρούσαν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου.

<b>log PAF-AH πλάσματος</b>			
<b>Μοντέλο 1:</b> Περιλαμβάνει: SBP, TC, LDL-C, non HDL-C, Apo B, Apo E			
	<b>beta</b>	<b>P value</b>	<b>95% CI</b>
SBP	0.004	0.01	0.001/0.006
<b>Μοντέλο 2:</b> Όπως στο Μοντέλο 1, αλλά χωρίς την SBP			
LDL-C	0.001	0.01	<0.001/0.002

<b>HDL-PAF-AH</b>			
<b>Μοντέλο 1:</b> Περιλαμβάνει: insulin, HOMA index, TG, TG/HDL-C			
	<b>beta</b>	<b>P value</b>	<b>95% CI</b>
TG/HDL-C	-0.2	0.01	-0.3/-0.4
HOMA	-0.02	0.04	-0.03/-0.001
<b>Μοντέλο 2:</b> Όπως στο Μοντέλο 1, αλλά χωρίς την TG/HDL-C			
HOMA	-0.02	0.01	-0.03/-0.004

SBP: συστολική αρτηριακή πίεση, HOMA: homeostasis model assessments index, TC: ολική χοληστερόλη, TG: τριγλυκερίδια, HDL-C: χοληστερόλη των υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, LDL-C: χοληστερόλη των χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, Non HDL-C: TC - HDL-C, Apo AI, Apo B, Apo E: απολιποπρωτεΐνες AI, B, E.

beta: μη προτυπομένος συντελεστής β, CI: διαστήματα εμπιστοσύνης.



**Πίνακας 8:** Πολυπαραγοντική ανάλυση συσχέτισης της ενεργότητας της PAF-AH του πλάσματος και της HDL-PAF-AH στα άτομα που δεν πληρούσαν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου.

	log PAF-AH πλάσματος*			HDL-PAF-AH <sup>#</sup>		
	beta	P value	95% CI	beta	P value	95% CI
LDL-C	0.002	<0.001	0.001/0.003			
HDL-C	-0.003	0.001	-0.005/-0.001			
TG				-0.008	<0.001	-0.01/-0.003

\* μεταβλητές που εξετάστηκαν στο μοντέλο: TC, τριγλυκερίδια, HDL-C, LDL-C, non HDL-C, TG/HDL-C, Apo B, Apo E, ουρικό οξύ.

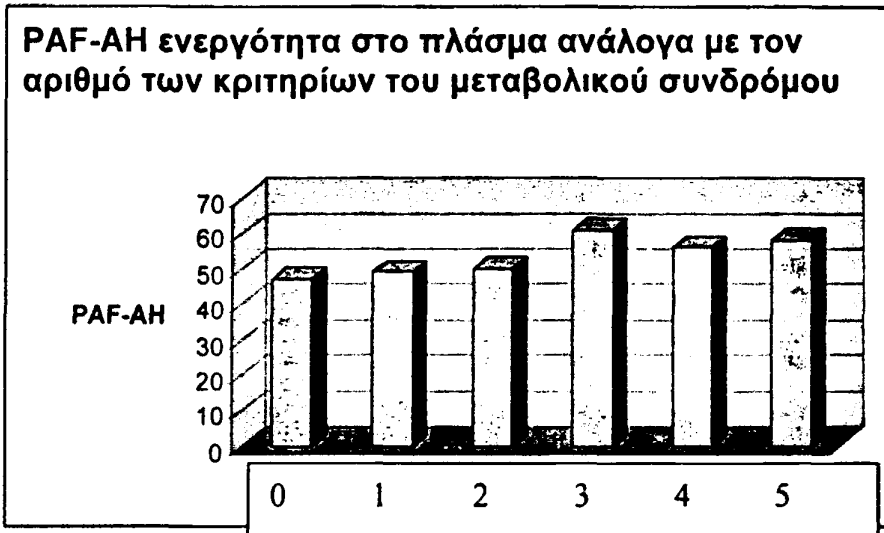
<sup>#</sup> μεταβλητές που εξετάστηκαν στο μοντέλο: τριγλυκερίδια, non HDL-C, TG/HDL-C, ουρικό οξύ.

TC: ολική χοληστερόλη, TG: τριγλυκερίδια, HDL-C: χοληστερόλη των υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, LDL-C: χοληστερόλη των χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, Non HDL-C: TC - HDL-C, Apo AI, Apo B, Apo E: απολιποπρωτεΐνες AI, B, E.

beta: μη προτυπομένος συντελεστής β, CI: διαστήματα εμπιστοσύνης.

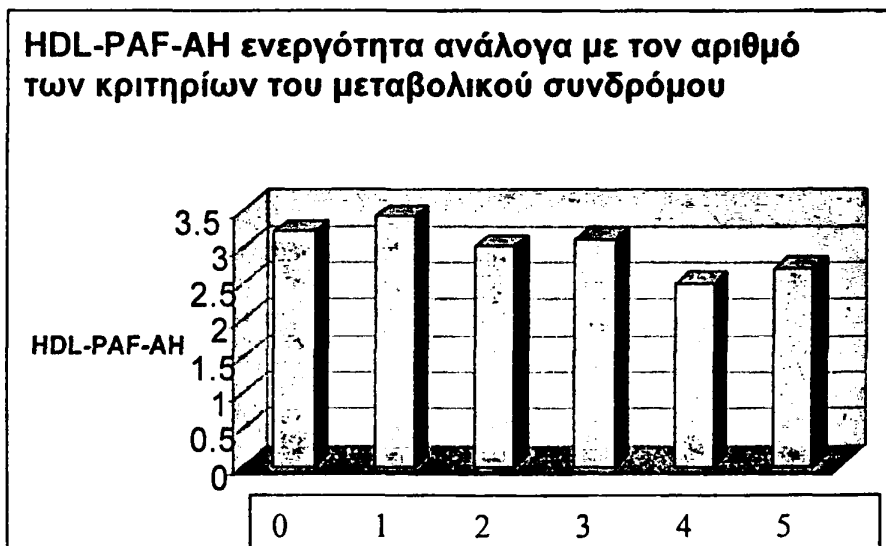


Εικόνα 8



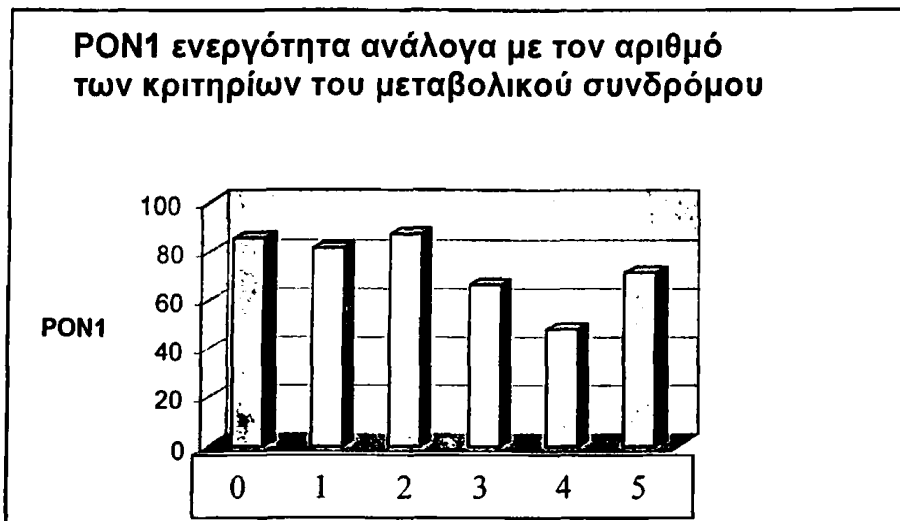
Αναφέρεται η διάμεση τιμή της ενεργότητας της PAF-AH του πλάσματος (nmol/ml/min). Οι στατιστικά σημαντικές διαφορές της ενεργότητας της PAF-AH του πλάσματος ανάλογα με τον αριθμό των κριτηρίων για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου είναι μεταξύ των ακόλουθων υποομάδων: 0 έναντι 3, 0 έναντι 4, 0 έναντι 5, 1 έναντι 3, 2 έναντι 3.

Εικόνα 9



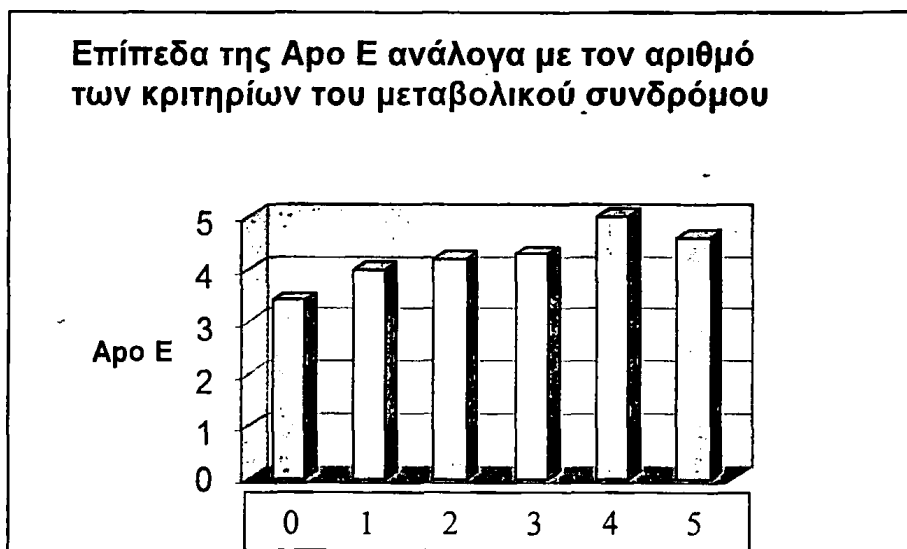
Αναφέρεται η μέση τιμή της ενεργότητας της HDL-PAF-AH (nmol/ml/min). Οι στατιστικά σημαντικές διαφορές της ενεργότητας της HDL-PAF-AH ανάλογα με τον αριθμό των κριτηρίων για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου είναι μεταξύ των ακόλουθων υποομάδων: 0 έναντι 4, 1 έναντι 4.

Εικόνα 10



Αναφέρεται η μέση τιμή της ενεργότητας της PON1 (nmol/ml/min). Δεν παρατηρήθηκε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά της ενεργότητας της PON1 ανάλογα με τον αριθμό των κριτηρίων για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου.

Εικόνα 11



Αναφέρεται η μέση τιμή των επιπέδων της Apo E (mg/dL). Οι στατιστικά σημαντικές διαφορές των επιπέδων της Apo E ανάλογα με τον αριθμό των κριτηρίων για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου είναι μεταξύ των ακόλουθων υποομάδων: 0 έναντι 1, 0 έναντι 2, 0 έναντι 3, 0 έναντι 4, 0 έναντι 5, 1 έναντι 4, 2 έναντι 4, 3 έναντι 4.

**Υπερτασικοί ασθενείς και PAF-AH:**

Όπως αναμενόταν, τόσο οι τιμές της συστολικής όσο και της διαστολικής αρτηριακής πίεσης ελαττώθηκαν σημαντικά μετά τη χορήγηση της αντι-υπερτασικής αγωγής. Αντίθετα, δεν παρατηρήθηκε καμία στατιστικά σημαντική μεταβολή της ενζυμικής ενεργότητας της PAF-AH του πλάσματος ή της HDL-PAF-AH μετά τη χορήγηση των αντι-υπερτασικών φαρμάκων (Πίνακας 9). Αν και γενικά δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές μεταβολές των τιμών των λιπιδαιμικών παραμέτρων μετά τη χορήγηση των περισσότερων αντιυπερτασικών φαρμάκων, η χορήγηση της ινδαπαμίδης είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της τιμής της ολικής χοληστερόλης (από  $235 \pm 57$  mg/dl σε  $249 \pm 55$  mg/dl,  $p=0.05$ ) και των τριγλυκεριδίων (από  $128 \pm 61$  mg/dl σε  $169 \pm 104$  mg/dl,  $p=0.02$ ), ενώ επίσης και η χορήγηση ατενολόλης είχε ως αποτέλεσμα κάποιες μεταβολές που αναφέρονται αναλυτικά παρακάτω.



**Πίνακας 9: Επίδραση των αντι-υπερτασικών φαρμάκων στην ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος και της HDL-PAF-AH.**

<b>Υπερτασικοί ασθενείς (n=121)</b>			
	<b>Πριν τη θεραπεία</b>	<b>Μετά τη θεραπεία</b>	<b>P value</b>
<b>Λασιδιπίνη (n=21)</b>			
PAF-AH πλάσματος	56 ± 15	54 ± 10	NS
HDL-PAF-AH	3.7 ± 1.2	3.9 ± 1.5	NS
SBP	167 ± 10	140 ± 15	< 0.001
DBP	95 ± 4	85 ± 7	< 0.001
<b>Βαλσαρτάνη (n=26)</b>			
PAF-AH πλάσματος	51 ± 13	52 ± 18	NS
HDL-PAF-AH	2.7 ± 0.9	3.0 ± 1.3	NS
SBP	161 ± 11	143 ± 13	< 0.001
DBP	98 ± 6	90 ± 7	< 0.001
<b>Ινδαπαμίδη (n=20)</b>			
PAF-AH πλάσματος	54 ± 12	56 ± 10	NS
HDL-PAF-AH	3.0 ± 1.2	3.0 ± 1.1	NS
SBP	157 ± 15	132 ± 12	< 0.001
DBP	96 ± 5	86 ± 9	< 0.001
<b>Μπεναζεπρίλη (n=20)</b>			
PAF-AH πλάσματος	56 ± 14	60 ± 15	NS
HDL-PAF-AH	3.0 ± 1.2	2.5 ± 0.8	NS
SBP	164 ± 16	140 ± 12	< 0.001
DBP	98 ± 6	85 ± 8	< 0.001
<b>Ατενολόλη (n=34)</b>			
PAF-AH πλάσματος	66 ± 20	62 ± 16	NS
HDL-PAF-AH	3.6 ± 1.0	4.1 ± 1.6	NS
SBP	153 ± 13	136 ± 15	< 0.001
DBP	100 ± 6	85 ± 6	< 0.001

SBP: συστολική αρτηριακή πίεση, DBP: διαστολική αρτηριακή πίεση. Αναφέρονται οι μέσες τιμές ± SD. Η ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος εκφράζεται ως nmol/ml πλάσματος/min και η SBP και DBP ως mmHg.

NS: όχι στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα.



**Σύγκριση ατενολόλης με νεμπιβολόλη:**

Τόσο η ατενολόλη όσο και η νεμπιβολόλη ελάττωσαν στατιστικά σημαντικά τα επίπεδα της συστολικής και της διαστολικής αρτηριακής πίεσης. Επιπρόσθετα, η χορήγηση της ατενολόλης είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση των τριγλυκεριδίων κατά 19% ( $p=0.05$ ) και της Lp(a) κατά 30% ( $p=0.028$ ), ενώ μετά τη χορήγηση της νεμπιβολόλης παρατηρήθηκε μία (μη στατιστικά σημαντική) τάση αύξησης της HDL-C κατά 8% και ελάττωσης των τριγλυκεριδίων κατά 5%. Επίσης, και τα 2 φάρμακα ελάττωσαν την hsCRP, η ατενολόλη κατά 14% ( $p=0.05$ ) και η νεμπιβολόλη κατά 15% ( $p=0.05$ ), αντίστοιχα. Αντίθετα, δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές μεταβολές στις τιμές του ινωδογόνου και της ομοκυστεΐνης μετά τη χορήγηση των 2 φαρμάκων. Αν και δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στα επίπεδα του ουρικού οξέως του ορού μετά τη χορήγηση των δύο β-αποκλειστών, η ατενολόλη είχε ως αποτέλεσμα μία αύξηση κατά 33% της νεφρικής απέκκρισής του. Επίσης, μόνο η χορήγηση της νεμπιβολόλης είχε ως αποτέλεσμα την ελάττωση κατά 20% του δείκτη HOMA ( $p=0.05$ ), ενώ τα επίπεδα της γλυκόζης δεν μεταβλήθηκαν σημαντικά (Πίνακες 10,11).



Πίνακας 10: Επίδραση της ατενολόλης στις μεταβολικές παραμέτρους.

	<i>Πριν τη θεραπεία</i>	<i>Μετά τη χορήγηση ατενολόλης</i>	<i>% διαφορά</i>	<i>P value</i>
SBP (mmHg)	158 ± 14	138 ± 11	-13	<b>&lt;0.001</b>
DBP (mmHg)	98 ± 9	82 ± 6	-16	<b>0.001</b>
TC (mg/dL)	294 ± 36	283 ± 54	-4	NS
HDL-C (mg/dL)	43 ± 9	44 ± 14	+2	NS
LDL-C (mg/dL)	220 ± 40	203 ± 51	-8	NS
TG (mg/dL)	149 ± 66	178 ± 106	+19	<b>0.05</b>
Apo AI (mg/dL)	135 ± 18	131 ± 26	-3	NS
Apo B (mg/dL)	146 ± 21	139 ± 24	-5	NS
Apo E (mg/dL)	4.7 ± 0.7	5.0 ± 1.2	+6	NS
Lp(a) (mg/dL)	4.55 (1.9-5.3)	5.9 (1-61)	+30	<b>0.03</b>
Κρεατινίνη (mg/dL)	0.88 ± 0.1	0.93 ± 0.13	+6	NS
Ινωδογόνο (mg/dL)	363 (322-396)	329 (263-445)	-9	NS
hsCRP (mg/L)	2.59 (1.96-5.8)	2.22 (0.45-9.5)	-14	<b>0.05</b>
Ομοκυστεΐνη (μmol/L)	8.7 (6-11)	9.8 (6-13)	+13	NS
Ουρικό οξύ (mg/dL)	4.7 ± 0.9	4.9 ± 1.1	+4	NS
FE ουρικού οξέος	9 ± 3.2	12 ± 4.3	+33	<b>0.03</b>
Γλυκόζη (mg/dL)	97 ± 8	98 ± 7.6	+1	NS
Ινσουλίνη (μU/mL)	8.5 ± 4.5	8.4 ± 3	-1	NS
HOMA	37 ± 18	37 ± 15	0	NS

SBP: συστολική αρτηριακή πίεση, DBP: διαστολική αρτηριακή πίεση, TC: ολική χοληστερόλη, HDL-C: χοληστερόλη των υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, LDL-C: χοληστερόλη των χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, TG: τριγλυκερίδια, Apo AI, Apo B, Apo E: απολιποπρωτεΐνες AI, B, E, Lp(a): λιποπρωτεΐνη (a), hsCRP: υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, FE: κλασματική απέκκριση.

Αναφέρονται οι μέσες τιμές ± SD, εκτός από την Lp(a), το ινωδογόνο, την hsCRP και την ομοκυστεΐνη (διάμεση τιμή με το ενδοτεταρτημοριακό εύρος -IQR).

NS: όχι στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα.





Πίνακας 11: Επίδραση της νεμπιβολόλης στις μεταβολικές παραμέτρους.

	Πριν τη θεραπεία	Μετά τη χορήγηση νεμπιβολόλης	% διαφορά	P value
SBP (mmHg)	162 ± 16	140 ± 11	-14	<0.001
DBP (mmHg)	95 ± 6	86 ± 6	-9	<0.001
TC (mg/dL)	306 ± 43	296 ± 53	-3	NS
HDL-C (mg/dL)	52 ± 20	56 ± 14	+8	NS
LDL-C (mg/dL)	225 ± 41	213 ± 53	-5	NS
TG (mg/dL)	145 ± 69	138 ± 58	-5	NS
Apo AI (mg/dL)	154 ± 33	153 ± 34	-1	NS
Apo B (mg/dL)	151 ± 35	140 ± 29	-7	NS
Apo E (mg/dL)	5.7 ± 1.7	5.6 ± 1.9	-2	NS
Lp(a) (mg/dL)	10.4 (1.7-41)	11.8 (1.5-39)	+13	NS
Κρεατινίνη (mg/dL)	0.83 ± 0.15	0.86 ± 0.12	+4	NS
Ινωδογόνο (mg/dL)	331 (233-384)	308 (243-459)	-7	NS
hsCRP (mg/L)	1.13 (0.77-7)	0.96 (0.5-6)	-15	0.05
Ομοκυστεΐνη (μmol/L)	8.1 (6.2-12.7)	9 (5.6-12.9)	+11	NS
Ουρικό οξύ (mg/dL)	4.7 ± 1.6	5 ± 1.8	+6	NS
FE ουρικού οξέος	10.7 ± 4.9	11.7 ± 6.2	+9	NS
Γλυκόζη (mg/dL)	93 ± 5.6	90 ± 6.2	-3	NS
Ινσουλίνη (μU/mL)	8.1 ± 4.3	7.3 ± 2.8	-10	NS
HOMA	34 ± 16	27 ± 13.6	-20	0.05

SBP: συστολική αρτηριακή πίεση, DBP: διαστολική αρτηριακή πίεση, TC: ολική χοληστερόλη, HDL-C: χοληστερόλη των υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, LDL-C: χοληστερόλη των χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, TG: τριγλυκερίδια, Apo AI, Apo B, Apo E: απολιποπρωτεΐνες AI, B, E, Lp(a): λιποπρωτεΐνη (a), hsCRP: υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, FE: κλασματική απέκκριση.

Αναφέρονται οι μέσες τιμές ± SD, εκτός από την Lp(a), το ινωδογόνο, την hsCRP και την ομοκυστεΐνη (διάμεση τιμή με το ενδοτεταρτημοριακό εύρος -IQR).

NS: όχι στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα.



**Πραβαστατίνη και β-αποκλειστές:**

Η προσθήκη πραβαστατίνης στους υπερλιπιδαιμικούς ασθενείς που ήταν ήδη σε αγωγή με ένα β-αποκλειστή (n=30) είχε ως αποτέλεσμα την ελάττωση της ολικής χοληστερόλης κατά 21% ( $p<0.001$ ), της LDL-C κατά 28% ( $p<0.001$ ), της Apo B κατά 22% ( $p<0.001$ ), της Apo E κατά 15% ( $p=0.014$ ) και της Lp(a) κατά 12% ( $p=0.023$ ). Επιπρόσθετα, η ομοκυστεΐνη ελαττώθηκε κατά 17% ( $p=0.05$ ) και η hsCRP κατά 43% ( $p=0.05$ ) μετά τη χορήγηση της πραβαστατίνης (Πίνακες 12,13,14).



**Πίνακας 12:** Επίδραση της πραβαστατίνης στις μεταβολικές παραμέτρους στο σύνολο των ασθενών (n=30) που ήταν ήδη σε αγωγή με ένα β-αποκλειστή.

	<i>Πριν τη χορήγηση πραβαστατίνης</i>	<i>Μετά τη χορήγηση πραβαστατίνης</i>	<i>% διαφορά</i>	<i>P value</i>
TC (mg/dL)	289 ± 50	227 ± 48	-21	<0.001
HDL-C (mg/dL)	50 ± 15	49 ± 14	-2	NS
LDL-C (mg/dL)	208 ± 48	150 ± 35	-28	<0.001
TG (mg/dL)	158 ± 83	142 ± 66	-10	NS
Apo AI (mg/dL)	142 ± 30	144 ± 28	+1	NS
Apo B (mg/dL)	140 ± 27	109 ± 23	-22	<0.001
Apo E (mg/dL)	5.3 ± 1.6	4.5 ± 1.0	-15	0.01
Lp(a) (mg/dL)	6 (1-61)	5.3 (1-86)	-12	0.02
Κρεατινίνη (mg/dL)	0.89 ± 0.13	0.93 ± 0.4	+4	NS
Ινωδογόνο (mg/dL)	318 (243-459)	303 (181-400)	-5	NS
hsCRP (mg/L)	1.38 (0.45-13.5)	0.79 (0.33-16.6)	-43	0.05
Ομοκυστεΐνη (μmol/L)	9 (5.6-13.2)	7.5 (5.6-12.1)	-17	0.05
Ουρικό οξύ (mg/dL)	4.9 ± 1.1	4.8 ± 1	-2	NS
FE ουρικού οξέος	11.8 ± 5	9.7 ± 3.5	-18	NS
Γλυκόζη (mg/dL)	94 ± 7.8	94 ± 8	0	NS
Ινσουλίνη (μU/mL)	8 ± 2.9	8.4 ± 4.7	+6	NS
HOMA	31 ± 14	32 ± 21	+3	NS

TC: ολική χοληστερόλη, HDL-C: χοληστερόλη των υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, LDL-C: χοληστερόλη των χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, TG: τριγλυκερίδια, Apo AI, Apo B, Apo E: απολιποπρωτεΐνες AI, B, E, Lp(a): λιποπρωτεΐνη (a), hsCRP: υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, FE: κλασματική απέκκριση.

Αναφέρονται οι μέσες τιμές ± SD, εκτός από την Lp(a), το ινωδογόνο, την hsCRP και την ομοκυστεΐνη (διάμεση τιμή με το ενδοτεταρτημοριακό εύρος -IQR).

NS: όχι στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα.



**Πίνακας 13:** Επίδραση της πραβαστατίνης στις μεταβολικές παραμέτρους στους ασθενείς που ήταν ήδη σε αγωγή με ατενολόλη (n=15).

	<i>Ατενολόλη</i>	<i>Ατενολόλη και πραβαστατίνη</i>	<i>% διαφορά</i>	<i>P value</i>
TC (mg/dL)	283 ± 54	222 ± 46	-21	<b>0.001</b>
HDL-C (mg/dL)	44 ± 14	42 ± 14	-4	NS
LDL-C (mg/dL)	203 ± 51	146 ± 30	-28	<b>0.003</b>
TG (mg/dL)	178 ± 106	166 ± 84	-7	NS
Apo AI (mg/dL)	131 ± 26	131 ± 28	0	NS
Apo B (mg/dL)	139 ± 24	113 ± 22	-19	<b>0.004</b>
Apo E (mg/dL)	5.0 ± 1.2	4.3 ± 0.9	-14	<b>&lt;0.001</b>
Lp(a) (mg/dL)	5.9 (1-61)	5.2 (1-40)	-12	<b>0.01</b>
Κρεατινίνη (mg/dL)	0.93 ± 0.13	0.96 ± 0.1	+3	NS
Ινωδογόνο (mg/dL)	329 (263-445)	296 (181-370)	-10	NS
hsCRP (mg/L)	2.22 (0.45-9.5)	0.96 (0.33-8)	-57	<b>0.001</b>
Ομοκυστεΐνη (μmol/L)	9.8 (6-13)	7.38 (5.6-11)	-25	<b>0.03</b>
Ουρικό οξύ (mg/dL)	4.9 ± 1.1	5 ± 0.8	+2	NS
FE ουρικού οξέος	12 ± 4.3	9.2 ± 3.5	-23	NS
Γλυκόζη (mg/dL)	98 ± 7.6	96 ± 8.2	-2	NS
Ινσουλίνη (μU/mL)	8.4 ± 3	8.8 ± 5.1	+5	NS
HOMA	37 ± 15	34 ± 22	-8	NS

TC: ολική χοληστερόλη, HDL-C: χοληστερόλη των υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, LDL-C: χοληστερόλη των χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, TG: τριγλυκερίδια, Apo AI, Apo B, Apo E: απολιποπρωτεΐνες AI, B, E, Lp(a): λιποπρωτεΐνη (a), hsCRP: υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, FE: κλασματική απέκκριση.

Αναφέρονται οι μέσες τιμές ± SD, εκτός από την Lp(a), το ινωδογόνο, την hsCRP και την ομοκυστεΐνη (διάμεση τιμή με το ενδοτεταρτημοριακό εύρος -IQR).

NS: όχι στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα.



**Πίνακας 14:** Επίδραση της πραβαστατίνης στις μεταβολικές παραμέτρους στους ασθενείς που ήταν ήδη σε αγωγή με νεμπιβολόλη (n=15).

	<i>Νεμπιβολόλη</i>	<i>Νεμπιβολόλη και πραβαστατίνη</i>	<i>% διαφορά</i>	<i>P value</i>
TC (mg/dL)	296 ± 53	231 ± 45	-22	<0.001
HDL-C (mg/dL)	56 ± 14	55 ± 14	-2	NS
LDL-C (mg/dL)	213 ± 53	153 ± 32	-28	<0.001
TG (mg/dL)	138 ± 58	119 ± 53	-14	NS
Apo AI (mg/dL)	153 ± 34	157 ± 32	+2	NS
Apo B (mg/dL)	140 ± 29	106 ± 27	-24	<0.001
Apo E (mg/dL)	5.6 ± 1.9	4.6 ± 1.5	-18	0.03
Lp(a) (mg/dL)	11.8 (1.5-39)	11.7 (1-86)	-1	NS
Κρεατινίνη (mg/dL)	0.86 ± 0.12	0.9 ± 0.2	+5	NS
Ινωδογόνο (mg/dL)	308 (243-459)	327 (228-400)	+6	NS
hsCRP (mg/L)	0.96 (0.5-6)	0.79 (0.41-16.6)	-18	0.04
Ομοκυστεΐνη (μmol/L)	9 (5.6-12.9)	8 (5.7-12.1)	-11	0.03
Ουρικό οξύ (mg/dL)	5 ± 1.8	4.7 ± 1.4	-6	NS
FE ουρικού οξέος	11.7 ± 6.2	10 ± 3	-14	NS
Γλυκόζη (mg/dL)	90 ± 6.2	92 ± 7	+2	NS
Ινσουλίνη (μU/mL)	7.3 ± 2.8	8.1 ± 3.5	+11	NS
HOMA	27 ± 19	29 ± 20	+7	NS

TC: ολική χοληστερόλη, HDL-C: χοληστερόλη των υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, LDL-C: χοληστερόλη των χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, TG: τριγλυκερίδια, Apo AI, Apo B, Apo E: απολιποπρωτεΐνες AI, B, E, Lp(a): λιποπρωτεΐνη (a), hsCRP: υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, FE: κλασματική απέκκριση.

Αναφέρονται οι μέσες τιμές ± SD, εκτός από την Lp(a), το ινωδογόνο, την hsCRP και την ομοκυστεΐνη (διάμεση τιμή με το ενδοτεταρτημοριακό εύρος -IQR).

NS: όχι στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα.



**Δυσλιπιδαιμικοί ασθενείς και PAF-AH:**

Η χορήγηση φλουβαστατίνης είχε ως αποτέλεσμα μία στατιστικά σημαντική ελάττωση της ενεργότητας της PAF-AH του πλάσματος κατά 25%, παράλληλα με τη στατιστικά σημαντική ελάττωση της ολικής χοληστερόλης κατά 20%, της LDL-C κατά 25% και των τριγλυκεριδίων κατά 12%. Αντίθετα, τόσο τα επίπεδα της HDL-C, όσο και η ενεργότητα της HDL-PAF-AH δεν μεταβλήθηκαν μετά τη χορήγηση της φλουβαστατίνης (Πίνακας 15). Η μείωση της ενεργότητας της PAF-AH του πλάσματος συσχετιζονταν θετικά με τη μείωση των επιπέδων τόσο της TC (beta: 0.152,  $p=0.006$ ) όσο και της LDL-C (beta: 0.113,  $p=0.04$ ) στη μονοπαραγοντική ανάλυση και με τη μείωση των επιπέδων της TC στην πολυπαραγοντική ανάλυση (beta: 0.152,  $p=0.006$ ).

Η χορήγηση της σιπροφιμπράτης στους ασθενείς με δυσλιπιδαιμία τύπου IIB είχε ως αποτέλεσμα μία στατιστικά σημαντική ελάττωση της ενεργότητας της PAF-AH του πλάσματος κατά 25%, παράλληλα με τη στατιστικά σημαντική μείωση της ολικής χοληστερόλης κατά 17%, της LDL-C κατά 18% και των τριγλυκεριδίων κατά 53%. Η μείωση της ενεργότητας της PAF-AH του πλάσματος συσχετιζονταν θετικά με τη μείωση των επιπέδων τόσο της TC (beta: 0.198,  $p=0.003$ ) όσο και της LDL-C (beta: 0.2,  $p=0.01$ ) στη μονοπαραγοντική ανάλυση και με τη μείωση των επιπέδων της TC στην πολυπαραγοντική ανάλυση (beta: 0.198,  $p=0.003$ ). Επιπρόσθετα, μετά τη χορήγηση της σιπροφιμπράτης παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση της ενεργότητας της HDL-PAF-AH κατά 26% και των επιπέδων της HDL-C κατά 7% (Πίνακας 16).



**Πίνακας 15:** Επίδραση της φλουβαστατίνης στο λιπιδαιμικό προφίλ και στην ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος και της HDL-PAF-AH στους δυσλιπιδαιμικούς ασθενείς.

<b>Δυσλιπιδαιμία τύπου ΙΙΑ (n=50)</b>			
<b>Φλουβαστατίνη</b>			
	<b>Πριν τη θεραπεία</b>	<b>Μετά τη θεραπεία</b>	<b>P value</b>
<b>Τριγλυκερίδια (mg/dL)</b>	173 ± 68	152 ± 73	<b>0.007</b>
<b>TC (mg/dL)</b>	300 ± 38	239 ± 36	<b>&lt;0.001</b>
<b>LDL-C (mg/dL)</b>	210 ± 33	158 ± 32	<b>&lt;0.001</b>
<b>HDL-C (mg/dL)</b>	53 ± 15	52 ± 15	<b>NS</b>
<b>PAF-AH πλάσματος (nmol/ml πλάσματος/min)</b>	69 ± 17	52 ± 13	<b>&lt;0.001</b>
<b>HDL-PAF-AH (nmol/ml πλάσματος/min)</b>	3.2 ± 1.6	3.2 ± 1.3	<b>NS</b>

TC: ολική χοληστερόλη, HDL-C: χοληστερόλη των υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, LDL-C: χοληστερόλη των χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών.

Αναφέρονται οι μέσες τιμές ± SD.

NS: όχι στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα.



**Πίνακας 16:** Επίδραση της σιπροφιμπράτης στο λιπιδαιμικό προφίλ και στην ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος και της HDL-PAF-AH στους δυσλιπιδαιμικούς ασθενείς.

**Δυσλιπιδαιμία τύπου IIB (n=40)**

**Σιπροφιμπράτη**

	<b>Πριν τη θεραπεία</b>	<b>Μετά τη θεραπεία</b>	<b>P value</b>
<b>Τριγλυκερίδια (mg/dL)</b>	289 ± 60	137 ± 66	<b>&lt;0.001</b>
<b>TC (mg/dL)</b>	288 ± 44	239 ± 41	<b>&lt;0.001</b>
<b>LDL-C (mg/dL)</b>	200 ± 41	165 ± 34	<b>&lt;0.001</b>
<b>HDL-C (mg/dL)</b>	43 ± 14	46 ± 16	<b>0.02</b>
<b>PAF-AH πλάσματος (nmol/ml πλάσματος/min)</b>	59 ± 15	44 ± 8	<b>&lt;0.001</b>
<b>HDL-PAF-AH (nmol/ml πλάσματος/min)</b>	2.3 ± 0.9	2.9 ± 1.1	<b>0.004</b>

TC: ολική χοληστερόλη, HDL-C: χοληστερόλη των υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, LDL-C: χοληστερόλη των χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών.

Αναφέρονται οι μέσες τιμές ± SD.





## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

### A) Μεταβολικό σύνδρομο:

Η μελέτη μας έδειξε για πρώτη φορά ότι στα άτομα που πληρούν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου η ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος είναι αυξημένη, ενώ η ενεργότητα της HDL-PAF-AH και της PON1 είναι ελαττωμένη σε σύγκριση με τα άτομα που δεν πληρούν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου.

Όπως είναι γνωστό, η ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος συσχετίζεται με την TC, την HDL-C την LDL-C, καθώς και με τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων και της Apo B, ενώ η ενεργότητα της HDL-PAF-AH συσχετίζεται με την HDL-C και την LDL-C, καθώς και με τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων και της Apo A1 [120,132,142,143,267]. Πρέπει να επισημανθεί ότι στη μελέτη μας δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά στα επίπεδα της TC και της LDL-C μεταξύ των δύο ομάδων, ενώ ο λόγος PAF-AH/LDL-C ήταν μεγαλύτερος στα άτομα που πληρούσαν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου. Συνεπώς, οι διαφορές στην ενζυμική ενεργότητα που παρατηρήθηκαν μεταξύ των δύο ομάδων πρέπει να αποδοθούν αποκλειστικά στις υπόλοιπες διαταραχές που χαρακτηρίζουν το μεταβολικό σύνδρομο.

Η ενεργότητα της HDL-PAF-AH αποτελεί πρακτικά ένα τμήμα της ολικής PAF-AH του πλάσματος. Έτσι, στους ασθενείς που πληρούν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου παρατηρείται μία αλλαγή στη κατανομή της συνολικής ενεργότητας της PAF-AH του πλάσματος, με αποτέλεσμα το ποσοστό της HDL-PAF-AH να μειώνεται σε σύγκριση με τα άτομα που δεν πληρούν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου. Με βάση τα αποτελέσματά μας η ποιοτική



αυτή αλλαγή στην ενεργότητα της συνολικής PAF-AH πρέπει να αποδοθεί σε 3 παράγοντες:

α) στην αντίσταση των περιφερικών ιστών στη δράση της ινσουλίνης που χαρακτηρίζει το μεταβολικό σύνδρομο,

β) στη δυσλιπιδαιμία,

γ) στην αρτηριακή υπέρταση.

Η σημασία της αντίστασης στη δράση της ινσουλίνης στην αλλαγή της κατανομής της συνολικής PAF-AH του πλάσματος υποσημαίνεται από τα αποτελέσματα της πολυπαραγοντικής ανάλυσης, σύμφωνα με τα οποία η ενεργότητα της HDL-PAF-AH συσχετίζεται αρνητικά με το δείκτη HOMA. Με άλλα λόγια, όσο αυξάνεται ο δείκτης HOMA και κατά συνέπεια η αντίσταση στη δράση της ινσουλίνης, τόσο μειώνεται η ενεργότητα της HDL-PAF-AH. Επιπρόσθετα, ένας δεύτερος παράγοντας που πιθανά διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη μεταβολή της κατανομής της ενεργότητας της PAF-AH του πλάσματος είναι η διαταραχή του μεταβολισμού των λιποπρωτεϊνών, όπως φαίνεται από τη συσχέτιση της ενεργότητας της PAF-AH του πλάσματος με τα επίπεδα της Apo E. Τέλος, με βάση την πολυπαραγοντική ανάλυση είναι φανερό ότι η αύξηση της αρτηριακής πίεσης αποτελεί τον τρίτο σημαντικό παράγοντα που καθορίζει τη μεταβολή της κατανομής της ενεργότητας της PAF-AH στα άτομα που πληρούν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου.

Γενετικοί (πολυγονικοί) όσο και περιβαλλοντικοί παράγοντες καθορίζουν την εμφάνιση του μεταβολικού συνδρόμου, κύριο χαρακτηριστικό του οποίου θεωρείται σήμερα ότι αποτελεί η αντίσταση στη δράση της ινσουλίνης [233,234,268,269]. Έχει παρατηρηθεί ότι η υπερινσουλιναίμία αυξάνει την ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος τόσο σε ανθρώπους όσο και σε ποντίκια, χωρίς ωστόσο να γνωρίζουμε



τον ακριβή μηχανισμό [137,270]. Στη μελέτη μας, εκτός από την αύξηση της ενεργότητας της PAF-AH του πλάσματος, παρατηρήθηκε και μείωση της ενεργότητας της HDL-PAF-AH στα άτομα που πληρούσαν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου. Χαρακτηριστικά, η μείωση της ενεργότητας της HDL-PAF-AH συσχετιζονταν με το βαθμό της ινσουλινο-αντοχής, όπως αυτή εκτιμήθηκε με το δείκτη HOMA. Πρέπει εδώ να επισημανθεί ότι ο δείκτης HOMA θεωρείται σήμερα ως ένας άριστος και εύκολος τρόπος για την εκτίμηση της αντίστασης στη δράση της ινσουλίνης, αφού συσχετίζεται πολύ ισχυρά με τα αποτελέσματα της γλυκαιμικής-ινσουλιναϊμικής καμπύλης (hyperinsulinemic clamp), που αποτελεί τη διαγνωστική δοκιμασία αναφοράς [233,268].

Επιπρόσθετα, η αντίσταση στη δράση της ινσουλίνης συσχετίζεται με την εμφάνιση κεντρογενούς παχυσαρκίας, η οποία πιθανά να συντελεί στην αλλαγή της κατανομής της ενεργότητας της PAF-AH του πλάσματος στα άτομα που πληρούν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου. Ο λιπώδης ιστός δεν είναι ένας αδρανής ιστός, αλλά αντίθετα είναι ένας ενεργός ενδοκρινής ιστός που εκκρίνει διάφορες κυτταροκίνες που ευοδώνουν τη φλεγμονώδη διαδικασία με αποτέλεσμα την εξέλιξη της αθηρωματικής νόσου των αγγείων [230]. Μία μελέτη έδειξε ότι οι υπερλιπιδαιμικοί παχύσαρκοι ασθενείς με ή χωρίς σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 έχουν αυξημένη ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος, η οποία συσχετίζεται με τα επίπεδα της ινσουλίνης [270]. Επιπρόσθετα, υγιή άτομα με δείκτη μάζας σώματος  $\geq 27 \text{kg/m}^2$  είχαν αυξημένη ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος [271]. Εξάλλου, η κεντρογενής παχυσαρκία, τόσο σε ευγλυκαιμικά άτομα όσο και σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 έχει συσχετισθεί με αυξημένη ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος και της HDL-PAF-AH [270].



Η δυσλιπιδαιμία του μεταβολικού συνδρόμου χαρακτηρίζεται από υψηλά επίπεδα τριγλυκεριδίων και Apo B, χαμηλά επίπεδα HDL-C, αυξημένη συγκέντρωση λιποπρωτεϊνικών καταλοίπων, καθώς και από παρουσία μικρών πυκνών HDL (HDL3c ή VHDL1) και μικρών πυκνών LDL σωματιδίων [230-232,268,272-274]. Αν και τα επίπεδα της LDL-C αποτελούν τον πιο σημαντικό παράγοντα που καθορίζει την ενεργότητα της PAF-AH, στη μελέτη μας η ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος και ο λόγος PAF-AH/LDL-C ήταν υψηλότερα στα άτομα που πληρούσαν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου, ενώ η LDL-C δεν διέφερε μεταξύ των 2 ομάδων. Αυτό σημαίνει ότι πρέπει να αναζητηθούν άλλοι παράγοντες, εκτός από την απόλυτη τιμή της LDL-C, που θα μπορούσαν να εξηγήσουν τις διαφορές στην ενεργότητα της PAF-AH.

Όπως είναι γνωστό, η ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος συσχετίζεται με την παρουσία μικρών πυκνών LDL σωματιδίων. Τα σωματίδια αυτά είναι ιδιαίτερα αθηρογόνα με αποτέλεσμα την επιτάχυνση της αθηρωματικής διαδικασίας και την αύξηση της επίπτωσης των καρδιαγγειακών συμβαμάτων, ανεξάρτητα από τα επίπεδα της LDL-C [274]. Αυτό συμβαίνει διότι τα μικρά πυκνά LDL σωματίδια οξειδώνονται πιο εύκολα και εμφανίζουν μειωμένη συγγένεια για τον LDL υποδοχέα, με αποτέλεσμα να παραμένουν για περισσότερο χρόνο στη κυκλοφορία. Επίσης τα σωματίδια αυτά αλληλεπιδρούν ισχυρά με τις πρωτεογλυκάνες του αρτηριακού τοιχώματος με αποτέλεσμα να παγιδεύονται στο αγγειακό τοίχωμα και να προκαλούν δυσλειτουργία του ενδοθηλίου [232,267,274]. Αφού λοιπόν ο ρυθμός κάθαρσης των μικρών πυκνών LDL σωματιδίων από την κυκλοφορία είναι μειωμένος και τα σωματίδια αυτά συσχετίζονται με την PAF-AH, η ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος αυξάνεται [132]. Έτσι, στα άτομα που πληρούν τα κριτήρια για τη



διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου, η παρουσία των μικρών πυκνών LDL σωματιδίων αντιπροσωπεύει έναν από τους μηχανισμούς που αυξάνουν την ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος, ιδιαίτερα αν λάβουμε υπόψη ότι στη μελέτη μας δεν υπήρχαν διαφορές στα επίπεδα της LDL-C και του λόγου PAF-AH/Apo B μεταξύ των 2 ομάδων.

Ένα επιπρόσθετο χαρακτηριστικό της δυσλιπιδαιμίας που χαρακτηρίζει το μεταβολικό σύνδρομο είναι τα υψηλότερα επίπεδα της Apo E. Η Apo E είναι μία πρωτεΐνη που συνδέεται με τις πλούσιες σε τριγλυκερίδια λιποπρωτεΐνες, δηλαδή με τα χυλομικρά και τις VLDL, καθώς και με τα κατάλοιπά τους [249,250]. Αν και ο καταβολισμός των πλούσιων σε τριγλυκερίδια λιποπρωτεϊνών επάγεται από την Apo E, η ίδια η Apo E μειώνει τη λιπόλυση αυτών των σωματιδίων και επίσης αυξάνει την παραγωγή των VLDL σωματιδίων από το ήπαρ [249,250]. Μάλιστα οι δύο τελευταίοι μηχανισμοί δεν συσχετίζονται με το γονότυπο της Apo E και ενεργοποιούνται σε ακραίες τιμές της Apo E [249,250]. Συνεπώς, για τη διατήρηση ενός φυσιολογικού λιπιδαιμικού προφίλ, τα επίπεδα της Apo E πρέπει να βρίσκονται μέσα σε συγκεκριμένα όρια, αφού τα υψηλά επίπεδα της Apo E ελαττώνουν τον καταβολισμό των πλούσιων σε τριγλυκερίδια λιποπρωτεϊνών καθώς αναστέλλουν την λιπόλυση και αυξάνουν την παραγωγή των VLDL, ενώ τα ελαττωμένα επίπεδα της Apo E οδηγούν σε υπερλιπιδαιμία εξαιτίας της ελάττωσης του καταβολισμού των λιπιδίων [250,251]. Η συσχέτιση του γονοτύπου και των επιπέδων της Apo E με το μεταβολισμό των λιποπρωτεϊνών φαίνεται από το γεγονός ότι τα επίπεδα της Apo E όταν συνδυάζονται με το γονότυπό της μπορούν να προβλέψουν το 27-38% των τιμών της χοληστερόλης και το 39-51% των τιμών των τριγλυκεριδίων [275,276].



Η ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος έχει συσχετισθεί με τα επίπεδα της Apo E, αφού η Apo E ρυθμίζει τον μεταβολισμό των λιποπρωτεϊνών (από τον οποίο εξαρτάται και η ενεργότητα της PAF-AH) [250]. Ασθενείς με υπερτριγλυκεριδαιμία (δυσλιπιδαιμία τύπου IIB ή IV) έχουν αυξημένη ενεργότητα της PAF-AH, γεγονός που αποδίδεται εν μέρει και στη διαταραχή του μεταβολισμού των VLDL και των IDL που ρυθμίζεται από την Apo E [132-134]. Έτσι, η διαταραχή του μεταβολισμού των πλούσιων σε τριγλυκερίδια λιποπρωτεϊνών αντιπροσωπεύει ένα επιπρόσθετο παθογενετικό μηχανισμό για την αύξηση της ενεργότητας της PAF-AH του πλάσματος στα άτομα που πληρούν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου. Συνεπώς, θα μπορούσαμε να υποθέσουμε ότι τα αυξημένα επίπεδα της Apo E σε συνδυασμό με το δυσλιπιδαιμικό φαινότυπο των ατόμων που πληρούν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου μπορούν να αυξήσουν την ενεργότητα της PAF-AH [132]. Στο πλαίσιο αυτό έχει αναφερθεί ότι η χορήγηση φενοφιμπράτης σε ασθενείς με δυσλιπιδαιμία τύπου IIB ή τύπου IV, ενός φαρμάκου που ομαλοποιεί το μεταβολισμό των πλούσιων σε τριγλυκερίδια λιποπρωτεϊνών, είχε ως αποτέλεσμα την ελάττωση των επιπέδων της Apo E, αλλά και τη μεταβολή της κατανομής της ενεργότητας της ολικής PAF-AH του πλάσματος προς την κατεύθυνση της αύξησης της HDL-PAF-AH, χωρίς να παρατηρηθεί σημαντική μεταβολή των επιπέδων της LDL-C [132,134]. Συμπερασματικά, στα άτομα που πληρούν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου, τόσο η διαταραχή του μεταβολισμού των πλούσιων σε τριγλυκερίδια λιποπρωτεϊνών (που συσχετίζεται με τα επίπεδα της Apo E) όσο και η παρουσία των μικρών πυκνών LDL σωματιδίων αποτελούν τους δύο πιθανούς μηχανισμούς που αυξάνουν την ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος. Επίσης, η μείωση της ενεργότητας της HDL-PAF-AH που παρατηρήθηκε και στη μελέτη μας στα άτομα που πληρούν τα κριτήρια για τη



διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου οφείλεται στη διαταραχή του καταβολισμού των πλούσιων σε τριγλυκερίδια apo B λιποπρωτεϊνών και στα αυξημένα επίπεδα των τριγλυκεριδίων αυτών των ατόμων [134].

Τέλος, η αύξηση της αρτηριακής πίεσης στα άτομα αυτά συσχετίζεται ως ένα βαθμό με την υπερινσουλιαιμία που χαρακτηρίζει το μεταβολικό σύνδρομο. Η υπερινσουλιαιμία αυξάνει τη δραστηριότητα του συμπαθητικού νευρικού συστήματος με αποτέλεσμα αγγειοσύσπασση, αύξηση της καρδιακής παροχής και αύξηση της επαναρρόφησης του νατρίου από τους νεφρούς [272]. Υπάρχουν λίγα και αντιφατικά δεδομένα στη βιβλιογραφία σχετικά με την ενεργότητα της PAF-AH σε υπερτασικούς ασθενείς. Έτσι, σε μία μελέτη παρατηρήθηκε ότι οι υπερτασικοί ασθενείς είχαν αυξημένη ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος αλλά όχι της HDL-PAF-AH [277], ενώ αντίθετα σε άλλη μελέτη δεν παρατηρήθηκε διαφορά στην ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος μεταξύ υγιών υπερτασικών και νορμοτασικών ατόμων [142].

Στη μελέτη μας, η συστολική αρτηριακή πίεση συσχετίζεται, τόσο στη μονοπαραγοντική όσο και στην πολυπαραγοντική ανάλυση με την ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος μόνο στα άτομα που πληρούσαν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου. Με βάση το εύρημα αυτό και σε συνδυασμό με την απουσία βιβλιογραφικών δεδομένων προσπαθήσαμε να διευκρινίσουμε το ρόλο της συστολικής αρτηριακής πίεσης στην ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος με αναλύσεις συσχέτισης (linear regression analysis) ξεχωριστά για τα νορμοτασικά και τα υπερτασικά άτομα (με αυξημένη συστολική αρτηριακή πίεση) που δεν πληρούσαν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου. Χαρακτηριστικά, σε καμία από αυτές τις υποομάδες η ενεργότητα της PAF-AH του



πλάσματος δεν συσχετίζονταν με τη συστολική αρτηριακή πίεση. Κατά συνέπεια, η συστολική αρτηριακή πίεση στην παρούσα μελέτη είναι ένας παράγοντας που επηρεάζει την ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος μόνο στα άτομα εκείνα που πληρούν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου, εύρημα που υποδηλώνει ένα ρυθμιστικό ρόλο της συστολικής αρτηριακής πίεσης μόνο σε περιπτώσεις συνύπαρξης και άλλων χαρακτηριστικών του μεταβολικού συνδρόμου.

Η ενεργότητα της PON1 επηρεάζεται από γενετικούς πολυμορφισμούς, αλλά και από διαιτητικές συνήθειες και περιβαλλοντικούς παράγοντες [161,162,168,187,278]. Η ενεργότητα της PON1 συσχετίζεται ως ένα βαθμό με τα επίπεδα της HDL-C και της Apo AI [187,279]. Τα αποτελέσματα της μελέτης μας συμφωνούν με τα αποτελέσματα προηγούμενων μελετών που έδειξαν ότι η ενεργότητα της PON1 είναι ελαττωμένη σε άτομα με διαταραχή της γλυκόζης νηστείας (IFG) ή σε άτομα που πληρούν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου σε σύγκριση με υγιή άτομα [280-283]. Επιπρόσθετα, παρατηρήθηκε αύξηση της ενζυμικής ενεργότητας με την αύξηση του αριθμού των κριτηρίων για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου [282]. Ωστόσο, μία μελέτη έδειξε ότι σε άτομα με διαταραχή της γλυκόζης νηστείας ο λόγος PON1/HDL-C συσχετιζόταν με το δείκτη HOMA, ένα εύρημα που δεν επιβεβαιώθηκε από τη παρούσα μελέτη (πιθανή εξήγηση αποτελεί το γεγονός ότι η μελέτη έγινε σε Γιαπωνέζους που είχαν ως μοναδικό χαρακτηριστικό την αντίσταση στη δράση της ινσουλίνης) [281]. Συμπερασματικά, η ελάττωση της ενεργότητας της PON1, ενός αντι-οξειδωτικού ενζύμου, που παρατηρείται στα άτομα που πληρούν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου υποδηλώνει την ύπαρξη οξειδωτικού stress [162,168,231,232,239,282-285].





Είναι χαρακτηριστικό ότι σε καμία από τις προαναφερόμενες μελέτες δεν υπήρξε σαφής διάκριση των ατόμων ανάλογα με την ύπαρξη ή όχι του μεταβολικού συνδρόμου, παρά μόνο υπήρχε συνήθως κάποιος ή κάποια από τα κριτήριά του. Στην παρούσα μελέτη για πρώτη φορά μελετήθηκε η ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος και της HDL-PAF-AH ξεχωριστά σε άτομα που πληρούσαν ή δεν πληρούσαν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου. Παράλληλα, μελετήθηκε η συσχέτιση της ενεργότητας της PAF-AH του πλάσματος και της HDL-PAF-AH με ένα μεγάλο αριθμό μεταβολικών παραμέτρων. Το πιο σημαντικό εύρημα της παρούσας μελέτης είναι η μεταβολή της κατανομής της ενεργότητας της ολικής PAF-AH προς την κατεύθυνση που ευοδώνει την αθηρωματική διαδικασία στα άτομα που πληρούν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου. Επιπρόσθετα, η αντίσταση στη δράση της ινσουλίνης αποτελεί καθοριστικό παράγοντα που μπορεί να οδηγήσει σε ελάττωση της ενεργότητας της HDL-PAF-AH στα άτομα που πληρούν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου, με αποτέλεσμα τη μείωση της αντι-αθηρογόνου δράσης της HDL-C. Έτσι, η ποιοτική κατανομή της ενεργότητας της συνολικής PAF-AH, όπως εκφράζεται από το λόγο HDL-PAF-AH/PAF-AH πλάσματος, μπορεί να αποτελέσει ένα επιπρόσθετο παράγοντα που συντελεί στην αυξημένη επίπτωση των καρδιαγγειακών συμβαμάτων που παρατηρείται στα άτομα που πληρούν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου.

Τέλος, οι μεταβολές που παρατηρήθηκαν στην ενεργότητα της PON1 ήταν ανάλογες με τις αλλαγές της ενεργότητας της HDL-PAF-AH, ένα εύρημα που για άλλη μία φορά υποδηλώνει τη κοινή φύση και τις κοινές ιδιότητες των δύο αυτών ενζύμων.



**B1) Υπέρταση και PAF-AH:**

Υπάρχουν πολλά αντιφατικά δεδομένα σχετικά με το ρόλο της ενεργότητας (ή της μάζας) της PAF-AH του πλάσματος στην εμφάνιση της καρδιαγγειακής νόσου [141,142,271,286,287]. Ένας από τους παράγοντες που θα μπορούσε να επηρεάσει τα αποτελέσματα των μελετών που διερεύνησαν τη σημασία της PAF-AH στην εμφάνιση των καρδιαγγειακών συμβαμάτων είναι η χορήγηση αντι-υπερτασικών ή υπολιπιδαιμικών φαρμάκων στους ασθενείς κατά τη διάρκεια αυτών των μελετών. Επιπρόσθετα, τόσο τα αντι-υπερτασικά όσο και τα υπολιπιδαιμικά φάρμακα έχουν και άλλες δράσεις που δεν συσχετίζονται άμεσα με την ελάττωση της αρτηριακής πίεσης ή των τιμών των λιπιδίων αντίστοιχα, δράσεις που αναφέρονται συχνά ως «πλειοτροπικές» [288-292]. Το κενό αυτό στη βιβλιογραφία ήρθε να καλύψει η μελέτη μας που έγινε με σκοπό να απαντήσει στο ερώτημα αν η χορήγηση των αντι-υπερτασικών ή των υπολιπιδαιμικών φαρμάκων μπορεί να επηρεάσει την ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος και της HDL-PAF-AH.

Τα αποτελέσματά μας δείχνουν για πρώτη φορά ότι η χορήγηση διαφόρων αντι-υπερτασικών φαρμάκων που αντιπροσωπεύουν τις κυριότερες κατηγορίες (β-αποκλειστών, ανταγωνιστών των διαύλων του ασβεστίου, διουρητικών, αναστολέων του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγιοτενσίνης και αναστολέων των υποδοχέων της αγγιοτενσίνης II) δεν επηρεάζει την ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος ή της HDL-PAF-AH. Είναι χαρακτηριστικό ότι ούτε η ινδαπαμίδη, το μόνο φάρμακο που επηρεάζει σημαντικά το λιπιδαιμικό προφίλ, ούτε η ατενολόλη που αυξάνει τα τριγλυκερίδια, δεν προκάλεσαν σημαντική μεταβολή της ενεργότητας της PAF-AH του πλάσματος ή της HDL-PAF-AH. Τα ευρήματα αυτά είναι ανάλογα με τα αποτελέσματα της μελέτης Ludwigshafen που έδειξε ότι η χορήγηση ανταγωνιστών των διαύλων του ασβεστίου, αναστολέων του μετατρεπτικού ενζύμου της



αγγειοτενσίνης και αναστολέων των υποδοχέων της αγγειοτενσίνης II δεν μετέβαλε την ενεργότητα της PAF-AH. Αντίθετα, η χορήγηση β-αποκλειστών είχε ως αποτέλεσμα την ελάττωση της ενεργότητας της PAF-AH, η οποία όμως έπαψε να είναι στατιστικά σημαντική όταν στην πολυπαραγοντική ανάλυση συμπεριλήφθηκαν τα υπολιπιδαιμικά φάρμακα καθώς και η ασπιρίνη [148].

Συμπερασματικά, κανένα από τα αντι-υπερτασικά φάρμακα δεν φαίνεται να τροποποιεί την ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος και της HDL-PAF-AH, έστω και αν παρατηρηθούν μικρές μεταβολές του λιπιδαιμικού προφίλ μετά τη χορήγησής τους.



## **B2) Σύγκριση νεμπιβολόλης με ατενολόλη:**

Ένας επιπρόσθετος στόχος της παρούσας μελέτης ήταν η άμεση σύγκριση της επίδρασης σε διάφορες βιοχημικές παραμέτρους ενός κλασσικού β-αποκλειστή, όπως η ατενολόλη, με ένα β-αποκλειστή τρίτης γενιάς, τη νεμπιβολόλη. Η διαφορά της νεμπιβολόλης συγκριτικά με τους άλλους β-αποκλειστές έγκειται στο γεγονός ότι η νεμπιβολόλη, εκτός από τον εκλεκτικό αποκλεισμό των  $\beta_1$  υποδοχέων, έχει και αγγειοδιαστολική δράση, αφού αυξάνει τα επίπεδα του οξειδίου του αζώτου (NO). Κατά συνέπεια, η αντιυπερτασική δράση της νεμπιβολόλης οφείλεται τόσο στον αποκλεισμό των β-υποδοχέων όσο και στην αγγειοδιαστολή [293,294]. Έτσι, για τον ίδιο βαθμό αντιυπερτασικής δράσης απαιτείται μικρότερος βαθμός αποκλεισμού των β-υποδοχέων, με αποτέλεσμα η δυσμενής επίδραση στο μεταβολικό προφίλ των ασθενών να είναι μικρότερη σε σύγκριση με την αντίστοιχη της ατενολόλης, ενός κλασσικού  $\beta_1$  καρδιοεκλεκτικού αποκλειστή [293,294]. Επιπρόσθετα, η αντιοξειδωτική δράση της νεμπιβολόλης μπορεί να ελαττώσει τις δυσμενείς επιδράσεις του οξειδωτικού stress που συνυπάρχει σε υπερτασικούς και δυσλιπιδαιμικούς ασθενείς [294,295]. Αναλυτικότερα, η επίδραση αυτών των 2 β-αποκλειστών στις μεταβολικές παραμέτρους έχει ως εξής:

- Λιπιδαιμικό προφίλ: όπως είναι γνωστό, η ατενολόλη αυξάνει τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων και ελαττώνει την HDL-C και τα επίπεδα της Apo AI [296-300], χωρίς να επηρεάζει τις άλλες λιπιδαιμικές παραμέτρους [297,298,301,302]. Αντίθετα, τα δεδομένα για τη νεμπιβολόλη είναι αντικρουόμενα. Έτσι, σε μερικές μελέτες η νεμπιβολόλη έχει αναφερθεί ότι ελαττώνει τα επίπεδα της TC, LDL-C, Apo AI και των τριγλυκεριδίων, ενώ σε άλλες μελέτες το φάρμακο δεν προκάλεσε σημαντικές μεταβολές στα επίπεδα της LDL-C, της HDL-C, των τριγλυκεριδίων και των



απολιποπρωτεϊνών [300,303-305]. Στην παρούσα μελέτη η νεμπιβολόλη όχι μόνο δεν επιδείνωσε τις λιπιδαιμικές παραμέτρους, όπως οι άλλοι β-αποκλειστές, αλλά προκάλεσε κάποια μικρή (αλλά όχι στατιστικά σημαντική) αύξηση της HDL-C και ελάττωση των τριγλυκεριδίων [300].

Οι υπερτασικοί ασθενείς συχνά εμφανίζουν διαταραχές του μεταβολισμού των λιποπρωτεϊνών στα πλαίσια του μεταβολικού συνδρόμου [233,234,306]. Κατά συνέπεια η νεμπιβολόλη θα μπορούσε να αποδειχθεί περισσότερο ωφέλιμη σε αυτή την ομάδα των ασθενών εξαιτίας της ουδέτερης (ή και ευνοϊκής) επίδρασής της στο λιπιδαιμικό προφίλ. Επιπρόσθετα, οι αντιοξειδωτικές της ιδιότητες που συσχετίζονται με το NO θα μπορούσαν να ελαττώσουν την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία που παρατηρείται σε υπερτασικούς ασθενείς με δυσλιπιδαιμία [293-295].

- Ινωδογόνο: οι υπερτασικοί ασθενείς συχνά χαρακτηρίζονται από διαταραχές στο σύστημα πήξης-ινωδόλυσης που ευοδώνει την εμφάνιση ισχαιμικών επεισοδίων [307,308]. Η ατενολόλη μπορεί να ελαττώσει το ινωδογόνο [307], ή να μην το μεταβάλλει [308], ενώ η νεμπιβολόλη μειώνει το ινωδογόνο μόνο σε υπερτασικούς ασθενείς που καπνίζουν [309]. Πρέπει εδώ να αναφερθεί ότι τα υπερτασικά άτομα που λαμβάνουν β-αποκλειστές ή θειαζιδικά διουρητικά έχουν υψηλότερες τιμές ινωδογόνου σε σύγκριση με νορμοτασικά άτομα. Στην παρούσα μελέτη τόσο η ατενολόλη όσο και η νεμπιβολόλη προκάλεσαν μία μικρή και όχι σημαντική μείωση του ινωδογόνου.

- Δείκτες φλεγμονής: η CRP θεωρείται σήμερα ως ο καλύτερος δείκτης φλεγμονής που μπορεί ανεξάρτητα από την παρουσία των άλλων παραγόντων κινδύνου να προβλέψει τη πιθανότητα εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου [233,234].

Από τη βιβλιογραφία γνωρίζουμε ότι η χορήγησή της ατενολόλης σε ασθενείς με



στεφανιαία νόσο μειώνει τα επίπεδα της CRP κατά 40%, ενώ αντίθετα δεν υπάρχουν δεδομένα για την επίδραση της νεμπιβολόλης στη CRP [310]. Στην παρούσα μελέτη, τόσο η ατενολόλη όσο και η νεμπιβολόλη μείωσαν τα επίπεδα της CRP.

- Ομοκυστεΐνη: μία πρόσφατη μετα-ανάλυση έδειξε ότι η ομοκυστεΐνη αντιπροσωπεύει ένα επιπρόσθετο παράγοντα κινδύνου (δευτερεύουσας ίσως σημασίας) για την εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου και αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου σε υγιή άτομα [311]. Επίσης, τα αυξημένα επίπεδα ομοκυστεΐνης αποτελούν παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση καρδιαγγειακών συμβαμάτων σε άτομα με ήδη εγκατεστημένη στεφανιαία νόσο, καθώς και σε υπερήλικα άτομα υψηλού κινδύνου [312,313]. Στη μελέτη μας κανένας από τους δύο β-αποκλειστές δεν επηρέασε σημαντικά τα επίπεδα της ομοκυστεΐνης, αν και στη βιβλιογραφία η νεμπιβολόλη αναφέρεται ότι μειώνει τα επίπεδα της ομοκυστεΐνης τόσο σε καπνιστές όσο και σε μη καπνιστές υπερτασικούς ασθενείς [309].

- Ουρικό οξύ: στη παρούσα μελέτη κανένας από τους δύο β-αποκλειστές δεν προκάλεσε σημαντική μεταβολή των επιπέδων του ουρικού οξέως στον ορό. Ανάλογα είναι τα δεδομένα από προηγούμενες αναφορές σχετικά με την επίδραση των β-αποκλειστών στο ουρικό οξύ [314-320]. Όμως, παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση της κλασματικής απέκκρισης του ουρικού οξέως μετά τη χορήγηση της ατενολόλης, ένα εύρημα ιδιαίτερα σημαντικό αν λάβουμε υπόψη ότι τα επίπεδα του ουρικού οξέως πιθανά αντιπροσωπεύουν ένα επιπρόσθετο προγνωστικό παράγοντα για την εμφάνιση καρδιαγγειακών επεισοδίων, τουλάχιστον σε ηλικιωμένα άτομα με μεμονωμένη συστολική υπέρταση [321]. Παρ' όλα αυτά, η χορήγηση της ατενολόλης δεν μετέβαλλε τα επίπεδα του ουρικού οξέως στον ορό, πιθανά γιατί η ουρικοζουρική



δράση της είναι μικρή ώστε να έχει αντίκτυπο στα επίπεδα του ουρικού οξέως στον ορό.

- Ομοιοστασία της γλυκόζης: στην παρούσα μελέτη, η νεμπιβολόλη ελάττωσε τα επίπεδα της ινσουλίνης κατά 10% και του δείκτη HOMA κατά 20%, αντίθετα με την ατενολόλη που δεν προκάλεσε καμία μεταβολή σε αυτές τις παραμέτρους. Κανένα από τα δύο φάρμακα δεν επηρέασε τις τιμές της γλυκόζης του ορού [300]. Με βάση τα δεδομένα αυτά, φαίνεται ότι η νεμπιβολόλη έχει ευνοϊκή δράση στο μεταβολισμό των υδατανθράκων σε σύγκριση με την ατενολόλη [296,299,302,322,323]. Κατά συνέπεια, η νεμπιβολόλη θα μπορούσε να αποτελέσει ιδανική επιλογή σε υπερτασικούς ασθενείς με διαταραχή της ανοχής στη γλυκόζη ή σε υπερτασικά άτομα που πληρούν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου, αφού ελαττώνει την αντίσταση των περιφερικών ιστών στη δράση της ινσουλίνης.



**B3) Επίδραση της πραβαστατίνης στους υπερτασικούς ασθενείς που έλαβαν****β-αποκλειστές:**

Οι υπερτασικοί ασθενείς πολύ συχνά εμφανίζουν διαταραχές των μεταβολικών παραμέτρων, ένα γεγονός που έχει ιδιαίτερη σημασία αν λάβουμε υπόψη ότι ο κίνδυνος για την εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου πολλαπλασιάζεται όταν συνυπάρχει υπέρταση με δυσλιπιδαιμία. Έτσι, στην πλειονότητα των υπερτασικών ατόμων πρέπει να χορηγείται και υπολιπιδαιμική αγωγή. Οι στατίνες αποτελούν φάρμακα πρώτης εκλογής για την αντιμετώπιση των υπερτασικών ασθενών με δυσλιπιδαιμία. Επιπρόσθετα, οι στατίνες σταθεροποιούν την αθηρωματική πλάκα και εμφανίζουν πλειοτρόπες δράσεις [324]. Η πραβαστατίνη, μία από τις πιο καλά μελετημένες στατίνες, αποτέλεσε την επιλογή μας για την αντιμετώπιση της δυσλιπιδαιμίας των υπερτασικών ασθενών που έλαβαν β-αποκλειστές.

Η χορήγηση της πραβαστατίνης στους υπερτασικούς ασθενείς που έλαβαν β-αποκλειστές είχε ως αποτέλεσμα την ελάττωση της TC και LDL-C, όπως και των επιπέδων της Apo B [325-331]. Επίσης παρατηρήθηκε σημαντική ελάττωση των επιπέδων της Apo E [325-331], ενώ σε μία μόνο μελέτη τα επίπεδα της Apo E παρέμειναν αμετάβλητα [332].

Στη μελέτη μας η χορήγηση πραβαστατίνης είχε ως αποτέλεσμα την ελάττωση της συγκέντρωσης της Lp(a), γεγονός που έχει προηγουμένως αναφερθεί μόνο σε δυσλιπιδαιμικούς ασθενείς με επίπεδα Lp(a) > 30 mg/dL [330], ενώ σε ασθενείς με μικρότερες τιμές Lp(a) τα ευρήματα ήταν αντιφατικά [329,330,332-337]. Ανάλογη ήταν η επίδραση της πραβαστατίνης στα επίπεδα της ομοκυστεΐνης. Αν και δεν υπάρχουν αναφορές ειδικά για τη δράση της πραβαστατίνης, πρόσφατη μετα-ανάλυση των κλινικών δοκιμών που μελέτησαν την επίδραση διαφόρων στατινών





στα επίπεδα της ομοκυστεΐνης έδειξε ότι καμία από τις στατίνες δεν μετέβαλε τα επίπεδά της στον ορό [338].

Σχετικά με το ινωδογόνο, η πραβαστατίνη δεν φαίνεται να επηρεάζει τα επίπεδά του στο αίμα, ενώ οι προηγούμενες αναφορές είναι αντιφατικές [339-342]. Πρόσφατη μετα-ανάλυση έδειξε ότι οι στατίνες δεν μεταβάλουν τα επίπεδα του ινωδογόνου στον ορό [338].

Στη μελέτη μας η χορήγηση πραβαστατίνης είχε ως αποτέλεσμα την ελάττωση της συγκέντρωσης της hsCRP [343-346]. Στο ίδιο συμπέρασμα κατέληξε και πρόσφατη μετα-ανάλυση η οποία έδειξε ότι όχι μόνο η πραβαστατίνη αλλά και οι άλλες στατίνες μειώνουν τα επίπεδά της hsCRP στον ορό [338].

Αντίθετα, η χορήγηση πραβαστατίνης δεν μετέβαλε τα επίπεδα της γλυκόζης και της ινσουλίνης, αν και έχει αναφερθεί ότι η πραβαστατίνη ελαττώνει την πιθανότητα εμφάνισης σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 [347].

Η αύξηση του ουρικού οξέος έχει συσχετισθεί με την αυξημένη εμφάνιση καρδιακών συμβαμάτων [348]. Στη μελέτη μας, τα επίπεδα του ουρικού οξέος και της κρεατινίνης δεν μεταβλήθηκαν μετά τη χορήγηση της πραβαστατίνης. Αντίθετα, η ατορβαστατίνη έχει αναφερθεί ότι ελαττώνει τα επίπεδα του ουρικού οξέος [348-350] και της κρεατινίνης [351,352].

Τέλος, πρέπει να αναφερθεί ότι η χορήγηση του συνδυασμού β-αποκλειστών με πραβαστατίνη ήταν καλά ανεκτή, ενώ στη βιβλιογραφία δεν έχουν αναφερθεί σημαντικές αλληλεπιδράσεις σε περιπτώσεις συγχορήγησης αυτών των φαρμάκων.



Γ) Δυσλιπιδαιμία και PAF-AH:

Αντίθετα με τα αντι-υπερτασικά φάρμακα, η μελέτη μας έδειξε ότι η χορήγηση δύο υπολιπιδαιμικών φαρμάκων, της φλουβαστατίνης και της σιπροφιμπράτης είχε ως αποτέλεσμα την ελάττωση της ενεργότητας της PAF-AH του πλάσματος, παράλληλα με την ελάττωση των επιπέδων της TC και της LDL-C. Τα αποτελέσματα αυτά είναι συμβατά με τα δεδομένα που υπάρχουν στη βιβλιογραφία μετά τη χορήγηση δύο άλλων υπολιπιδαιμικών φαρμάκων, της ατορβαστατίνης και της φενοφιμπράτης σε διάφορους τύπους δυσλιπιδαιμιών, όπως επίσης και μετά τη χορήγηση της φλουβαστατίνης σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 [133,134,138,148,353]. Η ελάττωση της ενεργότητας της PAF-AH μετά τη χορήγηση των υπολιπιδαιμικών φαρμάκων εξηγείται κυρίως από την ελάττωση της LDL-C. Επιπρόσθετα, τόσο οι στατίνες όσο και οι φιβράτες ελαττώνουν την ενζυμική ενεργότητα των πυκνών LDL σωματιδίων (LDL-4, LDL-5), δηλαδή των σωματιδίων με τα οποία συνδέεται κυρίως η PAF-AH [133,134,138,274,353]. Από τη βιβλιογραφία γνωρίζουμε ότι οι στατίνες ελαττώνουν την παραγωγή των πυκνών LDL σωματιδίων, αν και έχει επίσης αναφερθεί ότι οι στατίνες μειώνουν και τη σύνδεση της PAF-AH με τις apo B των πυκνών LDL σωματιδίων [133,134,138,353]. Αντίστοιχα οι φιβράτες, επάγοντας τη δράση της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης και ελαττώνοντας τη δράση της apoCIII, αυξάνουν τη λιπόλυση και μειώνουν την παραγωγή των VLDL1 σωματιδίων που αποτελούν τα πρόδρομα σωματίδια για τη σύνθεση των πυκνών LDL, με αποτέλεσμα τη δημιουργία ενός λιγότερου αθηρογόνου λιπιδαιμικού προφίλ [133,134,138,274].

Συμπερασματικά, τόσο οι στατίνες όσο και οι φιβράτες μειώνουν την ενεργότητα της PAF-AH, αφού ελαττώνουν συνολικά τα επίπεδα της LDL-C αλλά και επιλεκτικά τα μικρά πυκνά LDL σωματίδια.



Η χορήγηση της σιπροφιμπράτης είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της ενεργότητας της HDL-PAF-AH (παράλληλα με την αύξηση της HDL-C), αντίθετα με τη φλουβαστατίνη που δεν φάνηκε να την επηρεάζει. Ανάλογα είναι και τα δεδομένα από τη βιβλιογραφία σχετικά με την αύξηση της ενεργότητας της HDL-PAF-AH μετά τη χορήγηση μιας άλλης φιβπράτης, της φενοφιμπράτης [134]. Φαίνεται ότι η αύξηση της ενζυμικής ενεργότητας οφείλεται αποκλειστικά στην αύξηση της HDL, αφού οι φιβπράτες, επάγοντας τη δράση της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης, αυξάνουν τη λιπόλυση των πλούσιων σε τριγλυκερίδια λιποπρωτεϊνών αλλά και τη σύνθεση νέων HDL σωματιδίων. Οι δράσεις αυτές έχουν ως αποτέλεσμα τη συνολική αύξηση της HDL και κατά συνέπεια την αύξηση της ενεργότητας της HDL-PAF-AH [134,274].

Συμπερασματικά, τόσο οι φιβπράτες όσο και οι στατίνες μπορούν να μεταβάλουν την ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος, ενώ επιπρόσθετα οι φιβπράτες αυξάνουν την ενεργότητα της HDL-PAF-AH.



## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στα άτομα που πληρούν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου η συστολική αρτηριακή πίεση, η αντίσταση στη δράση της ινσουλίνης και τα υψηλότερα επίπεδα της Apo E, παράλληλα με τα αυξημένα επίπεδα των πλούσιων σε τριγλυκερίδια λιποπρωτεϊνών αποτελούν τις κύριες αιτίες για τη μεταβολή της κατανομής της ενεργότητας της συνολικής PAF-AH του πλάσματος σε σύγκριση με τα άτομα που δεν πληρούν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου.

Επίσης, οι στατίνες και οι φιβράτες μειώνουν την ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος, οι φιβράτες αυξάνουν την ενεργότητα της HDL-PAF-AH, ενώ αντίθετα τα αντι-υπερτασικά φάρμακα δεν επηρεάζουν την ενεργότητα αυτών των ενζύμων.

Τέλος, οι διαφορετικοί μηχανισμοί δράσης της νεμπιβολόλης σε σύγκριση με την ατενολόλη καθιστούν τη νεμπιβολόλη ως τη καταλληλότερη αγωγή για την αντιμετώπιση της υπέρτασης σε ασθενείς που εμφανίζουν παράλληλα υπερλιπιδαιμία και διαταραχή στην ομοιοστασία της γλυκόζης.



## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

**Σχεδιασμός της μελέτης - στόχοι:** Στη μελέτη συμμετείχαν 60 άτομα που πληρούσαν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου (είχαν δηλαδή 3 ή περισσότερα από τα ακόλουθα: περιφέρεια μέσης > 102 cm στους άνδρες ή > 88 cm στις γυναίκες, τριγλυκερίδια > 150 mg/dL, HDL χοληστερόλη < 40 mg/dL στους άνδρες ή 50 mg/dL στις γυναίκες, αρτηριακή πίεση  $\geq$  130/85 mmHg και γλυκόζη νηστείας  $\geq$  110 mg/dL) και 110 άτομα που δεν πληρούσαν αυτά τα κριτήρια.

Μελετήθηκαν επίσης 136 ασθενείς με ιδιοπαθή υπέρταση (συστολική αρτηριακή πίεση >140 mmHg ή/και διαστολική αρτηριακή πίεση > 90 mmHg) που έλαβαν λασιδιπίνη (n=21), βαλσαρτάνη (n=26), ινδαπαμίδη (n=20), μπεναζεπρίλη (n=20), ατενολόλη (n=34) και νεμπιβολόλη (n=15).

Ειδικότερα, για την άμεση σύγκριση της επίδρασης στις βιοχημικές παραμέτρους 2 διαφορετικών β-αποκλειστών σε ασθενείς με ιδιοπαθή υπέρταση και δυσλιπιδαιμία (ολική χοληστερόλη > 240 mg/dl, LDL > 190 mg/dl και τριγλυκερίδια < 500 mg/dl) χορηγήθηκε ατενολόλη (n=15) ή νεμπιβολόλη (n=15), ενώ στη συνέχεια και στους 30 ασθενείς προστέθηκε πραβαστατίνη.

Τέλος, στη μελέτη συμμετείχαν 90 δυσλιπιδαιμικοί ασθενείς, 50 με πρωτοπαθή υπερχοληστερολαιμία (LDL-C > 160 mg/dl -δυσλιπιδαιμία τύπου IIA-) που έλαβαν φλουβαστατίνη και 40 με μικτή υπερλιπιδαιμία (LDL-C > 160 mg/dl και τριγλυκερίδια > 200 mg/dl -δυσλιπιδαιμία τύπου IIB-) που έλαβαν σιπροφιμπράτη.

Στόχος της μελέτης ήταν η σύγκριση της ενεργότητας της PAF-AH του πλάσματος, της HDL-PAF-AH, της PON1 και των βιοχημικών παραμέτρων, καθώς και η συσχέτιση της ενεργότητας αυτών των ενζύμων με τις υπόλοιπες παραμέτρους σε κάθε ομάδα.



**Αποτελέσματα:** Τα άτομα που πληρούσαν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου παρουσίασαν αυξημένη ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος, ενώ αντίθετα η ενεργότητα της HDL-PAF-AH και της PON1 ήταν ελαττωμένη σε σύγκριση με τα άτομα που δεν πληρούσαν τα κριτήρια του μεταβολικού συνδρόμου. Επίσης, τα άτομα με μεταβολικό σύνδρομο είχαν αυξημένα επίπεδα Apo E σε σύγκριση με τα άτομα που δεν πληρούσαν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου. Στην πολυπαραγοντική ανάλυση και μόνο για τα άτομα που πληρούσαν τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου η ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος συσχετιζόταν θετικά με τη συστολική αρτηριακή πίεση, ενώ η ενεργότητα της HDL-PAF-AH συσχετιζόταν αρνητικά με το δείκτη HOMA. Επιπρόσθετα, η ενεργότητα της PAF-AH του πλάσματος, της HDL-PAF-AH καθώς και τα επίπεδα της Apo E συσχετιζόταν θετικά με τον αριθμό των κριτηρίων για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου.

Καμία στατιστικά σημαντική μεταβολή της ενζυμικής ενεργότητας της PAF-AH του πλάσματος ή της HDL-PAF-AH δεν παρατηρήθηκε μετά τη χορήγηση των αντι-υπερτασικών φαρμάκων. Επιπρόσθετα, η ατενολόλη (σε αντίθεση με τη νεμπιβολόλη) είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση των τριγλυκεριδίων, της Lp(a) και της νεφρικής απέκκρισης του ουρικού οξέος. Οι δύο β-αποκλειστές ελάττωσαν τα επίπεδα της hsCRP, ενώ δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές μεταβολές στις τιμές του ινωδογόνου και της ομοκυστεΐνης μετά τη χορήγηση των δύο φαρμάκων. Επίσης, μόνο η χορήγηση της νεμπιβολόλης είχε ως αποτέλεσμα μία στατιστικά σημαντική ελάττωση του δείκτη HOMA. Η προσθήκη της πραβαστατίνης στους υπερλιπιδαιμικούς ασθενείς που ήταν ήδη σε αγωγή με ένα β-αποκλειστή εκτός από τις αναμενόμενες επιδράσεις στο λιπιδαιμικό προφίλ είχε ως αποτέλεσμα την ελάττωση της Apo E, της Lp(a), της ομοκυστεΐνης και των επιπέδων της hsCRP.



Τέλος, η χορήγηση της φλουβαστατίνης και της σιπροφιμπράτης είχε ως αποτέλεσμα την ελάττωση της ενεργότητας της PAF-AH του πλάσματος, παράλληλα με τη μείωση των επιπέδων της TC. Αντίθετα, μόνο η χορήγηση της σιπροφιμπράτης είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της ενεργότητας της HDL-PAF-AH παράλληλα με την αύξηση των επιπέδων της HDL-C.



## ABSTRACT

Plasma- and lipoprotein-associated activity of the platelet activating factor acetylhydrolase (PAF-AH) plays an important role in inflammation and in atherosclerotic process, which are present in the metabolic syndrome (MS). Paraoxonase 1 (PON1) is an esterase associated with high-density lipoprotein (HDL), which contributes to the anti-atherogenic effects of this lipoprotein.

We investigated the activities of both enzymes in 60 patients with MS and 110 age- and sex-matched subjects without it (non-MS group). Plasma PAF-AH activity was higher in the MS compared to the non-MS group, while HDL-PAF-AH and serum PON1 activities were lower in the MS compared to the non-MS group. Univariate regression analysis in the MS group showed that plasma PAF-AH activity was positively associated with systolic blood pressure, whereas HDL-PAF-AH activity was inversely associated with the homeostasis model assessments (HOMA) index. Both associations remained significant in the multivariate regression analysis, suggesting that insulin resistance and systolic hypertension are major determinants for the alterations in plasma and HDL-associated PAF-AH activity in MS patients.

We also evaluated the effects of representative antihypertensive and hypolipidemic drugs on PAF-AH and HDL-PAF-AH activity in 136 patients with essential hypertension and in 90 patients with dyslipidemias type IIA or IIB. The administration of all antihypertensive drugs did not affect either the total plasma or the HDL-associated PAF-AH activity. In contrast, treatment with fluvastatin and ciprofibrate reduced plasma PAF-AH activity (associated with a reduction in total and HDL cholesterol levels), while ciprofibrate increased HDL-PAF-AH (associated with an increase in HDL-cholesterol levels).





Finally, we evaluated the effect of b-blocker therapy with atenolol or nebivolol alone or in combination with pravastatin on the metabolic profile in 30 hypertensive hyperlipidemic men and women. Atenolol increased TG and Lp(a) levels, as well as the renal fractional excretion of uric acid. Both b-blockers decreased CRP levels, but had no significant effect on fibrinogen and homocysteine levels. Glucose levels remained the same, while the HOMA index was reduced following nebivolol administration.

The addition of pravastatin decreased the levels of Apo E, Lp(a), homocysteine and CRP beyond the expected alterations in the lipid profile.



## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

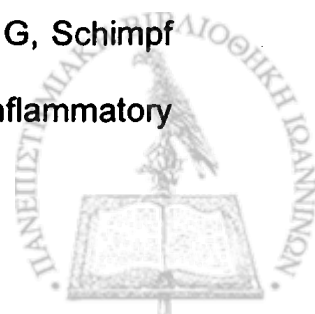
1. Hussain MM. A proposed model for the assembly of chylomicrons. *Atherosclerosis* 2000;148:1-15.
2. Beisiegel U. Lipoprotein metabolism. *Eur Heart J* 1998;19 Suppl A:A20-A23.
3. Eckel RH. Lipoprotein lipase. A multifunctional enzyme relevant to common metabolic diseases. *N Engl J Med* 1989;320:1060-8.
4. Cooper AD. Hepatic clearance of plasma chylomicron remnants. *Semin Liver Dis* 1992;12:386-96.
5. 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.
6. Goldberg IJ. Lipoprotein lipase and lipolysis: central roles in lipoprotein metabolism and atherogenesis. *J Lipid Res* 1996;37:693-707.
7. Connelly PW. The role of hepatic lipase in lipoprotein metabolism. *Clin Chim Acta* 1999;286:243-55.
8. Eisenberg S, Sehayek E. Remnant particles and their metabolism. *Baillieres Clin Endocrinol Metab* 1995;9:739-53.
9. Brown MS, Goldstein JL. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science* 1986;232:34-47.
10. Brown MS, Goldstein JL. Lipoprotein receptors in the liver. Control signals for plasma cholesterol traffic. *J Clin Invest* 1983;72:743-7.
11. Eisenberg S. High density lipoprotein metabolism. *J Lipid Res* 1984;25:1017-58.



12. Fielding CJ, Fielding PE. Molecular physiology of reverse cholesterol transport. *J Lipid Res* 1995;36:211-28.
13. Tall AR. Plasma cholesteryl ester transfer protein and high-density lipoproteins: new insights from molecular genetic studies. *J Intern Med* 1995;237:5-12.
14. Acton SL, Scherer PE, Lodish HF, Krieger M. Expression cloning of SR-BI, a CD36-related class B scavenger receptor. *J Biol Chem* 1994;269:21003-9.
15. Tselepis AD, Chapman JM. Inflammation, bioactive lipids and atherosclerosis: potential roles of a lipoprotein-associated phospholipase A2, platelet activating factor-acetylhydrolase. *Atheroscler Suppl* 2002;3:57-68.
16. Karasawa K, Harada A, Satoh N, Inoue K, Setaka M. Plasma platelet activating factor-acetylhydrolase (PAF-AH). *Prog Lipid Res* 2003;42:93-114.
17. Ross R. Atherosclerosis - an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340:115-26.
18. Libby P. Changing concepts of atherogenesis. *J Intern Med* 2000;247:349-58.
19. Libby P. Molecular bases of the acute coronary syndromes. *Circulation* 1995;91:2844-50.
20. Montgomery RR, Cohn ZR. Endocytic and secretory repertoire of the lipid loaded macrophage. *J Leukocyte Biol* 1999;45:129-38.
21. Williams KJ, Tabas I. The response-to-retention hypothesis of early atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995;15:551-61.
22. Lusis EJ. Atherosclerosis. *Nature* 2000;407:233-41.



23. Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE, Khoo JC, Witztum JL. Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N Engl J Med* 1989;320:915-24.
24. Young SG, Parasarathy S. Why are low density lipoproteins atherogenic? *West J Med* 1994;160:153-64.
25. Navab M, Berliner JA, Watson AD, Hama SY, Territo MC, Lusis AJ, Shih DM, Van Lenten BJ, Frank JS, Demer LL, Edwards PA, Fogelman AM. The Yin and Yang of oxidation in the development of the fatty streak. A review based on the 1994 George Lyman Duff Memorial Lecture. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996;16:831-42.
26. Suarna C, Dean RT, May J, Stocker R. Human atherosclerotic plaque contains both oxidized lipids and relatively large amounts of alpha-tocopherol and ascorbate. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995;15:1616-24.
27. Witztum JL, Berliner JH. Oxidised phospholipids and isoprostanes in atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 1998;9:441-8.
28. Tjoelker LW, Stafforini DM. Platelet-activating factor acetylhydrolases in health and disease. *Biochim Biophys Acta* 2000;1488:102-23.
29. Stafforini DM, Prescott SM, McIntyre TM. Human plasma platelet-activating factor acetylhydrolase. Purification and properties. *J Biol Chem* 1987;262:4223-30.
30. Stremier KE, Stafforini DM, Prescott SM, McIntyre TM. Human plasma platelet-activating factor acetylhydrolase. Oxidatively fragmented phospholipids as substrates. *J Biol Chem* 1991;266:11095-103.
31. Tjoelker LW, Wilder C, Eberhardt C, Stafforini DM, Dietsch G, Schimpf B, Hooper S, Le Trong H, Cousens LS, Zimmerman GA. Anti-inflammatory



properties of a platelet-activating factor acetylhydrolase. *Nature* 1995;374:549-53.

32. Asano K, Okamoto S, Fukunaga K, Shiomi T, Mori T, Iwata M, Ikeda Y, Yamaguchi K. Cellular source(s) of platelet-activating-factor acetylhydrolase activity in plasma. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;261:511-14.
33. Svetlov SI, Sturm E, Olson MS, Crawford JM. 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.
34. 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.
35. Howard KM, Miller JE, Miwa M, Olson MS. Cell-specific regulation of expression of plasma-type platelet-activating factor acetylhydrolase in the liver. *J Biol Chem* 1997;272:27543-8.
36. Narahara H, Nishioka Y, Johnston JM. Secretion of platelet-activating factor acetylhydrolase by human decidual macrophages. *J Clin Endocrinol Metab* 1993;77:1258-62.
37. Narahara H, Johnston JM. Effects of endotoxins and cytokines on the secretion of platelet-activating factor acetylhydrolase by human decidual macrophages. *Am J Obstet Gynecol* 1993;169:531-7.
38. Cao Y, Stafforini DM, Zimmerman GA, McIntyre TM, Prescott SM. Expression of plasma platelet-activating factor acetylhydrolase is transcriptionally regulated by mediators of inflammation. *J Biol Chem* 1998;273:4012-20.



39. Kawano Y, Narahara H, Johnston JM. Inhibitory effect of interleukin-8 on the secretion of platelet-activating factor acetylhydrolase by human decidual macrophage. *J Soc Gynecol Invest* 1999;6:328-32.
40. Hakkinen T, Luoma JS, Hiltunen MO, Macphee CH, Milliner KJ, Patel L, Rice SQ, Tew DG, Karkola K, Yla-Herttuala S. Lipoprotein-associated phospholipase A2, platelet-activating factor acetylhydrolase, is expressed by macrophages in human and rabbit atherosclerotic lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:2909-17.
41. Wu X, McIntyre TM, Zimmerman GA, Prescott SM, Stafforini DM. Molecular characterization of the constitutive expression of the plasma PAF-acetylhydrolase gene in macrophages. *Biochem J* 2003;375:351-63.
42. Yasuda K, Johnston JM. The hormonal regulation of platelet-activating factor-acetylhydrolase in the rat. *Endocrinology* 1992;130:708-16.
43. Satoh K, Imaizumi T, Yoshida H, Takamatsu S. Effect of 17 beta-estradiol on secretion of platelet-activating factor acetylhydrolase by HepG2 cells. *Metabolism* 1993;42:672-7.
44. Narahara H, Miyakawa I, Johnston JM. The inhibitory effect of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on the secretion of platelet-activating factor acetylhydrolase by human decidual macrophages. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:3121-6.
45. Maki N, Hoffman DR, Johnston JM. Platelet-activating factor acetylhydrolase activity in maternal, fetal, and newborn rabbit plasma during pregnancy and lactation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988;85:728-32.



46. Howard KM, Olson MS. The expression and localization of plasma platelet-activating factor acetylhydrolase in endotoxemic rats. *J Biol Chem* 2000;275:19891-6.
47. Memon RA, Fuller J, Moser AH, Feingold KR, Grunfeld C. In vivo regulation of plasma platelet-activating factor acetylhydrolase during the acute phase response. *Am J Physiol* 1999;277:R94-R103.
48. Hardardottir I, Grunfeld C, Feingold KR. Effects of endotoxin and cytokines on lipid metabolism. *Curr Opin Lipidol* 1994;5:207-15.
49. Tselepis AD, Elisaf M, Basis S, Karabina SAP, Chapman MJ, Siamopoulou A. Association of the inflammatory state in active juvenile rheumatoid arthritis with hypo-high density lipoproteinemia and reduced lipoprotein associated platelet-activating factor acetylhydrolase activity. *Arthritis Rheum* 1999;42:373-83.
50. Tetta C, Bussolino F, Modena V, Montrucchio G, Segoloni G, Pescarmona G, Camussi G. Release of platelet-activating factor in systemic lupus erythematosus. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1990;91:244-56.
51. Graham RM, Stephens CJ, Silvester W, Leong LL, Sturm MJ, Taylor RR. Plasma degradation of platelet-activating factor in severely ill patients with clinical sepsis. *Crit Care Med* 1994;22:204-12.
52. Kald B, Smedh K, Olaison G, Sjodahl R, Tagesson C. Platelet-activating factor acetylhydrolase activity in intestinal mucosa and plasma of patients with Crohn's disease. *Digestion* 1996;57:472-7.
53. Cederholm A, Svenungsson E, Stengel D, Fei GZ, Pockley AG, Ninio E, Frostegard J. Platelet-activating factor-acetylhydrolase and other novel risk and



protective factors for cardiovascular disease in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Reum* 2004;50:2869-76.

54. Partrick DA, Moore EE, Moore FA, Biffi WL, Barnett CC. Reduced PAF-acetylhydrolase activity is associated with postinjury multiple organ failure. *Shock* 1997;7:170-4.
55. Serebruany VL, Gurbel PA, Murugesan SR, Lowry DR, Sturm E, Svetlov SI. Depressed plasma platelet-activating factor acetylhydrolase in patients presenting with acute myocardial infarction. *Cardiology* 1998;90:127-30.
56. Satoh K, Imaizumi T, Kawamura Y, Yoshida H, Takamatsu S, Takamatsu M. Increased activity of the platelet-activating factor acetylhydrolase in plasma low density lipoprotein from patients with essential hypertension. *Prostaglandins* 1989;37(6):673-82.
57. Ostermann G, Ruhling K, Zabel-Langhennig R, Winkler L, Schlag B, Till U. Plasma from atherosclerotic patients exerts an increased degradation of platelet-activating factor. *Thromb Res* 1987;47:279-85.
58. Imaizumi T, Satoh K, Yoshida H, Kawamura Y, Hiramoto M, Koyanagi M, Takamatsu S, Takamatsu M. Activity of platelet-activating factor (PAF) acetylhydrolase in plasma from healthy habitual cigarette smokers. *Heart Vessels* 1990;5:81-6.
59. Satoh K, Yoshida H, Imaizumi T, Takamatsu S, Mizuno S. Platelet-activating factor acetylhydrolase in plasma lipoproteins from patients with ischemic stroke. *Stroke* 1992;23:1091-2.





60. Ostermann G, Lang A, Holtz H, Ruhling K, Winkler L, Till U. The degradation of platelet-activating factor in serum and its discriminating value in atherosclerotic patients. *Thromb Res* 1988;52:529-40.
61. Pritchard PH, Chonn A, Yeung CC. The degradation of platelet-activating factor in the plasma of a patient with familial high density lipoprotein deficiency (Tangier disease). *Blood* 1985;66:1476-8.
62. Meade CJ, Metcalfe S, Svvennsen R, Jamieson N, Watson C, Calne RY, kleber G, Neild G. Serum PAF acetylhydrolase and chronic cholestasis. *Lancet* 1991;338:1016-7.
63. Hofmann B, Ruhling K, Spangenberg P, Ostermann G. Enhanced degradation of platelet-activating factor in serum from diabetic patients. *Haemostasis* 1989;19:180-4.
64. Dulioust A, Hilliquin P, Menkes CJ, Benveniste J, Arnoux B. PAF-acetylhydrolase activity is increased in patients with rheumatic diseases. *Scand J Rheumatol* 1992;21:161-4.
65. Caslake MJ, Packard CJ, Suckling KE, Holmes SD, Chamberlain P, Macphee CH. Lipoprotein-associated phospholipase A2, platelet-activating factor acetylhydrolase: a potential new risk factor for coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2000;150:413-9.
66. Blankenberg S, Stengel D, Rupprecht HJ, Bickel C, Meyer J, Cambien F, Tiret L, Ninio E. Plasma PAF-acetylhydrolase in patients with coronary artery disease: results of a cross-sectional analysis. *J Lipid Res* 2003;44:1381-6.
67. Karabina SAP, Elisaf MG, Goudevenos J, Siamopoulos KC, Sideris D, Tselepis AD. PAF-acetylhydrolase activity on Lp(a) before and during Cu<sup>2+</sup>-induced oxidative modification in vitro. *Atherosclerosis* 1996;125:121-34.



68. Fless GM, ZumMallen ME, Scanu AM. Physicochemical properties of apolipoprotein(a) and lipoprotein(a-) derived from the dissociation of human plasma lipoprotein (a). *J Biol Chem* 1986;261:8712-8.
69. Stafforini DM, Tjoelker LW, McCormick SP, Vaitkus D, McIntyre TM, Gray PW, Young SG, Prescott SM. Molecular basis of the interaction between plasma platelet-activating factor acetylhydrolase and low density lipoprotein. *J Biol Chem* 1999;274:7018-24.
70. Stafforini DM, McIntyre TM, Carter ME, Prescott SM. Human plasma platelet-activating factor acetylhydrolase. Association with lipoprotein particles and role in the degradation of platelet-activating factor. *J Biol Chem* 1987;262:4215-22.
71. Min JH, Jain MK, Wilder C, Paul L, Apitz-Castro R, Aspleaf DC, Gelb MH. Membrane-bound plasma platelet activating factor acetylhydrolase acts on substrate in the aqueous phase. *Biochemistry* 1999;38:12935-42.
72. Krieger M, Acton S, Ashkenas J, Pearson A, Penman M, Resnick D. Molecular flypaper, host defense, and atherosclerosis. Structure, binding properties, and functions of macrophage scavenger receptors. *J Biol Chem* 1993;268:4569-72.
73. Dejager S, Mietus-Synder M, Pitas RE. Oxidized low density lipoproteins bind to the scavenger receptor expressed by rabbit smooth muscle cells and macrophages. *Arterioscler Thromb* 1993;13:371-8.
74. Brown MS, Goldstein JL. Lipoprotein metabolism in the macrophage: implications for cholesterol deposition in atherosclerosis. *Annu Rev Biochem* 1983;52:223-61.



75. Henriksen T, Mahoney EM, Steinberg D. Enhanced macrophage degradation of biologically modified low density lipoprotein. *Arteriosclerosis* 1983;3:149-59.
76. Morel DW, DiCorleto PE, Chisolm GM. Endothelial and smooth muscle cells alter low density lipoprotein in vitro by free radical oxidation. *Arteriosclerosis* 1984;4:357-64.
77. Parthasarathy S, Printz DJ, Boyd D, Joy L, Steinberg D. Macrophage oxidation of low density lipoprotein generates a modified form recognized by the scavenger receptor. *Arteriosclerosis* 1986;6:505-10.
78. Palinski W, Rosenfeld ME, Yla-Herttuala S, Gurtner GC, Socher SS, Butler SW, Parthasarathy S, Carew TE, Steinberg D, Witztum JL. Low density lipoprotein undergoes oxidative modification in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989;86:1372-6.
79. Yla-Herttuala S, Palinski W, Rosenfeld ME, Parthasarathy S, Carew TE, Butler S, Witztum JL, Steinberg D. Evidence for the presence of oxidatively modified low density lipoprotein in atherosclerotic lesions of rabbit and man. *J Clin Invest* 1989;84:1086-95.
80. Chisolm GM, Steinberg D. The oxidative modification hypothesis of atherogenesis: an overview. *Free Radic Biol Med* 2000;28:1815-26.
81. Witztum JL, Steinberg D. The oxidative modification hypothesis of atherosclerosis: does it hold for humans? *Trends Cardiovasc Med* 2001;11:93-102.
82. Berliner JA, Heinecke JW. The role of oxidized lipoproteins in atherogenesis. *Free Radic Biol Med* 1996;20:707-27.



83. Quinn MT, Parthasarathy S, Fong LG, Steinberg D. Oxidatively modified low density lipoproteins: a potential role in recruitment and retention of monocyte/macrophages during atherogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987;84:2995-8.
84. McMurray HF, Parthasarathy S, Steinberg D. Oxidatively modified low density lipoprotein is a chemoattractant for human T lymphocytes. *J Clin Invest* 1993;92:1004-8.
85. Cushing SD, Berliner JA, Valente AJ, Territo MC, Navab M, Parhami F, Gerrity R, Schwartz CJ, Fogelman AM. Minimally modified low density lipoprotein induces monocyte chemotactic protein 1 in human endothelial cells and smooth muscle cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990;87:5134-8.
86. Ohgushi M, Kugiyama K, Fukunaga K, Murohara T, Sugiyama S, Miyamoto E, Yasue H. Protein kinase C inhibitors prevent impairment of endothelium-dependent relaxation by oxidatively modified LDL. *Arterioscler Thromb* 1993;13:1525-32.
87. Thomas CE, Jackson RL, Ohlweiler DF, Ku G. Multiple lipid oxidation products in low density lipoproteins induce interleukin-1 beta release from human blood mononuclear cells. *J Lipid Res* 1994;35:417-27.
88. Xu XP, Meisel SR, Ong JM, Kaul S, Cercek B, Rajavashisth TB, Sharifi B, Shah PK. Oxidized low-density lipoprotein regulates matrix metalloproteinase-9 and its tissue inhibitor in human monocyte-derived macrophages. *Circulation* 1999;99:993-8.
89. Hessler JR, Morel DW, Lewis LJ, Chisolm GM. Lipoprotein oxidation and lipoprotein-induced cytotoxicity. *Arteriosclerosis* 1983;3:215-22.



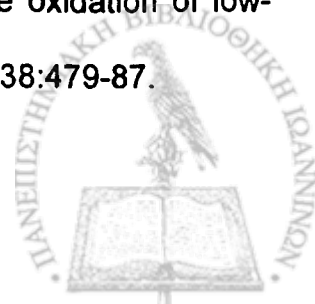
90. Steinbrecher UP, Parthasarathy S, Leake DS, Witztum JL, Steinberg D. Modification of low density lipoprotein by endothelial cells involves lipid peroxidation and degradation of low density lipoprotein phospholipids. Proc Natl Acad Sci U S A 1984;81:3883-7.
91. Steinbrecher UP, Pritchard PH. Hydrolysis of phosphatidylcholine during LDL oxidation is mediated by platelet-activating factor acetylhydrolase. J Lipid Res 1989;30:305-15.
92. Marathe GK, Harrison KA, Murphy RC, Prescott SM, Zimmerman GA, McIntyre TM. Bioactive phospholipid oxidation products. Free Radic Biol Med 2000;28:1762-70.
93. Smiley PL, Stremier KE, Prescott SM, Zimmerman GA, McIntyre TM. Oxidatively fragmented phosphatidylcholines activate human neutrophils through the receptor for platelet-activating factor. J Biol Chem 1991;266:11104-10.
94. Silva AR, de Assis EF, Caiado LF, Marathe GK, Bozza MT, McIntyre TM, Zimmerman GA, Prescott SM, Bozza PT, Castro-Faria-Neto HC. Monocyte chemoattractant protein-1 and 5-lipoxygenase products recruit leukocytes in response to platelet-activating factor-like lipids in oxidized low-density lipoprotein. J Immunol 2002;168:4112-20.
95. Heery JM, Kozak M, Stafforini DM, Jones DA, Zimmerman GA, McIntyre TM, Prescott SM. Oxidatively modified LDL contains phospholipids with platelet-activating factor-like activity and stimulates the growth of smooth muscle cells. J Clin Invest 1995;96:2322-30.



96. Marathe GK, Zimmerman GA, Prescott SM, McIntyre TM. Activation of vascular cells by PAF-like lipids in oxidized LDL. *Vascul Pharmacol* 2002;38:193-200.
97. Lee C, Sigari F, Segrado T, Horkko S, Hama S, Subbaiah PV, Miwa M, Navab M, Witztum JL, Reaven PD. All ApoB-containing lipoproteins induce monocyte chemotaxis and adhesion when minimally modified. Modulation of lipoprotein bioactivity by platelet-activating factor acetylhydrolase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:1437-46.
98. Patel KD, Zimmerman GA, Prescott SM, McIntyre TM. Novel leukocyte agonists are released by endothelial cells exposed to peroxide. *J Biol Chem* 1992;267:15168-75.
99. Schlame M, Haupt R, Wiswedel I, Kox WJ, Rustow B. Identification of short-chain oxidized phosphatidylcholine in human plasma. *J Lipid Res* 1996;37:2608-15.
100. Watson AD, Leitinger N, Navab M, Faull KF, Horkko S, Witztum JL, Palinski W, Schwenke D, Salomon RG, Sha W, Subbanagounder G, Fogelman AM, Berliner JA. Structural identification by mass spectrometry of oxidized phospholipids in minimally oxidized low density lipoprotein that induces monocyte/endothelial interactions and evidence for their presence in vivo. *J Biol Chem* 1997;272:13597-607.
101. Watson AD, Navab M, Hama SY, Sevanian A, Prescott SM, Stafforini DM, McIntyre TM, Du BN, Fogelman AM, Berliner JA. Effect of platelet activating factor-acetylhydrolase on the formation and action of minimally oxidized low density lipoprotein. *J Clin Invest* 1995;95:774-82.



102. Schmitt A, Negre-Salvayre A, Trolly M, Valdiguie P, Salvayre R. Phospholipid hydrolysis of mildly oxidized LDL reduces their cytotoxicity to cultured endothelial cells. Potential protective role against atherogenesis. *Biochim Biophys Acta* 1995;1256:284-92.
103. Tsoukatos DC, Arborati M, Liapikos T, Clay KL, Murphy RC, Chapman MJ, Ninio E. Copper-catalyzed oxidation mediates PAF formation in human LDL subspecies. Protective role of PAF:acetylhydrolase in dense LDL. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:3505-12.
104. Subbanagounder G, Leitinger N, Shih PT, Faull KF, Berliner JA. Evidence that phospholipid oxidation products and/or platelet-activating factor play an important role in early atherogenesis: in vitro and In vivo inhibition by WEB 2086. *Circ Res* 1999;85:311-8.
105. Zimmerman GA, Prescott SM, McIntyre TM. Platelet-activating factor and cell associated mediator of inflammation. Basic principles and clinical correlates, 2<sup>nd</sup> edition, New York: Raven Press 1992:149-76.
106. Evangelou AM. Platelet-activating factor (PAF): implications for coronary heart and vascular diseases. *Prost Leukotr Essent Fatty Acids* 1994;50:1-28.
107. Itabe H. Oxidized phospholipids as a new landmark in atherosclerosis. *Prog Lipid Res* 1998;37:181-207.
108. MacPhee CH, Moores KE, Boyd HF, Dhanak D, Ife RJ, Leach CA, Leake DS, Milliner KJ, Patterson RA, Suckling KE, Tew DG, Hickey DM. Lipoprotein-associated phospholipase A<sub>2</sub>, platelet-activating factor acetylhydrolase, generates two bioactive products during the oxidation of low-density lipoprotein: use of a novel inhibitor. *Biochem J* 1999;338:479-87.

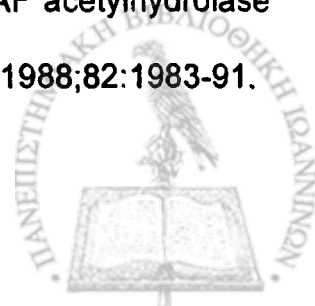


- 109.** Wu R, Huang YH, Elinder LS, Frostegard J. Lysophosphatidylcholine is involved in the antigenicity of oxidized LDL. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:626-30.
- 110.** Kume N, Gimbrone MA, Jr. Lysophosphatidylcholine transcriptionally induces growth factor gene expression in cultured human endothelial cells. *J Clin Invest* 1994;93:907-11.
- 111.** Sakai M, Miyazaki A, Hakamata H, Sasaki T, Yui S, Yamazaki M, Shichiri M, Horiuchi S. Lysophosphatidylcholine plays an essential role in the mitogenic effect of oxidized low density lipoprotein on murine macrophages. *J Biol Chem* 1994;269:31430-5.
- 112.** Kume N, Cybulsky MI, Gimbrone MA, Jr. Lysophosphatidylcholine, a component of atherogenic lipoproteins, induces mononuclear leukocyte adhesion molecules in cultured human and rabbit arterial endothelial cells. *J Clin Invest* 1992;90:1138-44.
- 113.** Karabina SA, Elisaf M, Bairaktari E, Tzallas C, Siamopoulos KC, Tselepis AD. 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.
- 114.** Hirayama T, Ogawa Y, Tobise K, Kikuchi K. Mechanism of endothelium-dependent vasorelaxation evoked by lysophosphatidylcholine. *Hypertens Res* 1998;21:137-45.
- 115.** Huang YH, Schafer-Elinder L, Wu R, Claesson HE, Frostegard J. Lysophosphatidylcholine (LPC) induces proinflammatory cytokines by a platelet-





- activating factor (PAF) receptor-dependent mechanism. *Clin Exp Immunol* 1999;116:326-31.
116. Marathe GK, Silva AR, de Castro Faria Neto HC, Tjoelker LW, Prescott SM, Zimmerman GA, McIntyre TM. Lysophosphatidylcholine and lyso-PAF display PAF-like activity derived from contaminating phospholipids. *J Lipid Res* 2001;42:1430-7.
117. Parthasarathy S, Steinbrecher UP, Barnett J, Witztum JL, Steinberg D. Essential role of phospholipase A2 activity in endothelial cell-induced modification of low density lipoprotein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1985;82:3000-4.
118. Stafforini DM, Zimmerman GA, McIntyre TM, Prescott SM. The platelet-activating factor acetylhydrolase from human plasma prevents oxidative modification of low-density lipoprotein. *Trans Assoc Am Physicians* 1992;105:44-63.
119. Yamada Y, Yoshida H, Ichihara S, Imaizumi T, Satoh K, Yokota M. Correlations between plasma platelet-activating factor acetylhydrolase (PAF-AH) activity and PAF-AH genotype, age and atherosclerosis in a Japanese population. *Atherosclerosis* 2000;150:209-16.
120. Guerra R, Zhao B, Mooser V, Stafforini D, Johnston JM, Cohen JC. Determinants of plasma platelet-activating factor acetylhydrolase: heritability and relationship to plasma lipoproteins. *J Lipid Res* 1997;38:2281-8.
121. Miwa M, Miyake T, Yamanaka T, Sugatani J, Suzuki Y, Sakata S, Araki Y, Matsumoto M. Characterization of serum platelet-activating factor (PAF) acetylhydrolase. Correlation between deficiency of serum PAF acetylhydrolase and respiratory symptoms in asthmatic children. *J Clin Invest* 1988;82:1983-91.



122. Balta G, Gurgey A, Kudayarov DK, Tunc B, Altay C. Evidence for the existence of the PAF acetylhydrolase mutation (Val179Phe) in non-Japanese populations: a preliminary study in Turkey, Azerbaijan and Kyrgyzstan. *Thromb Res* 2001;101:231-4.
123. Yamada Y, Yokota M. Loss of activity of plasma platelet-activating factor acetylhydrolase due to a novel Gln281Arg mutation. *Biochem Biophys Res Commun* 1997;236:772-5.
124. Shimokata K, Yamada Y, Kondo T, Ichihara S, Izawa H, Nagata K, Murohara T, Ohnod M, Yokota M. Association of gene polymorphisms with coronary artery disease in individuals with or without nonfamilial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 2004;172:167-73.
125. Marathe GK, Zimmerman GA, McIntyre TM. Platelet-activating factor acetylhydrolase, and not paraoxonase-1, is the oxidized phospholipid hydrolase of high density lipoprotein particles. *J Biol Chem* 2003;278:3937-47.
126. Bell R, Collier DA, Rice SQ, Roberts GW, MacPhee CH, Kerwin RW, Price J, Gloger IS. Systemic screening of the LDL-PLA2 gene for polymorphic variants and case-control analysis in schizophrenia. *Biochem Biophys Res Commun* 1997;241:630-5.
127. Kruse S, Mao XQ, Heinzmann A, Blattmann S, Roberts MH, Braun S, Gao PS, Forster J, Kuehr J, Hopkin JM, Shirakawa T, Deichmann KA. The Ile198Thr and Ala379Val variants of palmaric PAF-acetylhydrolase impair catalytic activities and are associated with atopy and asthma. *Am J Hum Genet* 2000;66:1522-30.
128. Rubin AH, Smith LJ, Patterson R. The bronchoconstrictor properties of platelet-activating factor in humans. *Am Rev Respir Dis* 1987;136:1145-51.



129. Tsimihodimos V, Karabina SAP, Tambaki AP, Bairaktari E, Miltiadous G, Goudevenos JA, Cariolou MA, Chapman MJ, Tselepis AD, Elisaf M. Altered distribution of PAF-acetylhydrolase activity between LDL and HDL as a function of the severity of hypercholesterolemia. *J Lipid Res* 2002;43:256-63.
130. Stafforini DM, Carter ME, Zimmerman GA, McIntyre TM, Prescott SM. Lipoproteins alter the catalytic behavior of the platelet-activating factor acetylhydrolase in human plasma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989;86:2393-7.
131. Lund-Katz S, Laplaud PM, Phillips MC, Chapman ME. Apolipoprotein B-100 conformation and particle surface charge in human LDL subspecies: implication for LDL receptor interaction. *Biochemistry* 1998;37:12867-74.
132. Elisaf M, Tselepis AD. Effect of hypolipidemic drugs on lipoprotein-associated platelet activating factor acetylhydrolase. Implication for atherosclerosis. *Biochem Pharmacol* 2003;66:2069-73.
133. Tsimihodimos V, Karabina SA, Tambaki AP, Bairaktari E, Goudevenos JA, Chapman MJ, Elisaf M, Tselepis AD. 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.
134. Tsimihodimos V, Kakafika A, Tambaki AP, Bairaktari E, Chapman MJ, Elisaf M, Tselepis AD. Fenofibrate induces HDL-associated PAF-AH but attenuates enzyme activity associated with apoB-containing lipoproteins. *J Lipid Res* 2003;44:927-34.
135. Brown MS, Goldstein JL. Receptor-mediated control of cholesterol metabolism. *Science* 1976;191:150-4.



136. Grundy SM. HMG-CoA reductase inhibitors for treatment of hypercholesterolemia. *N Engl J Med* 1988;319:24-33.
137. Kudolo GB, Bressler P, DeFronzo RA. Plasma PAF acetylhydrolase in non-insulin dependent diabetes mellitus and obesity: effect of hyperinsulinemia and lovastatin treatment. *J Lipid Mediat Cell Signal* 1997;17:97-113.
138. Winkler K, Abletshauser C, Friedrich I, Hoffmann MM, Wieland H, Marz W. Fluvastatin slow-release lowers platelet-activating factor acetyl hydrolase activity: a placebo-controlled trial in patients with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:1153-9.
139. Tsimihodimos V, Kostoula A, Kakafika A, Bairaktari E, Tselepis AD, Mikhailidis DP, Elisaf M. Effect of fenofibrate on serum inflammatory markers in patients with high triglyceride values. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 2004;9:27-33.
140. The Phase II Pafase ARDS Prevention Group. *Eur Soc Intensive Care Med Meeting* 2000, Rome.
141. Blake GJ, Dada N, Fox JC, Manson JE, Ridker PM. A prospective evaluation of lipoprotein-associated phospholipase A(2) levels and the risk of future cardiovascular events in women. *J Am Coll Cardiol* 2001;38:1302-6.
142. Packard CJ, O'Reilly DS, Caslake MJ, McMahon AD, Ford I, Cooney J, Macphee CH, Suckling KE, Krishna M, Wilkinson FE, Rumley A, Lowe GD. Lipoprotein-associated phospholipase A2 as an independent predictor of coronary heart disease. West of Scotland Coronary Prevention Study Group. *N Engl J Med* 2000;343:148-55.
143. Ballantyne CM, Hoogeveen RC, Bang H, Coresh J, Folsom AR, Heiss G, Sharrett AR. 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.

144. Koenig W, Khuseyinova N, Lowel H, Trischler G, Meisinger C. Lipoprotein-associated phospholipase A<sub>2</sub> 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.
145. Oei HHS, van der Meer IM, Hofman A, Koudstaal PJ, Stijnen T, Breteler MMB, Witteman JCM. Lipoprotein-associated phospholipase A<sub>2</sub> activity is associated with risk of coronary heart disease and ischemic stroke. The Rotterdam study. *Circulation* 2005;111:570-5.
146. Iribarren C, Gross MD, Darbinian JA, Jacobs Jr DR, Sidney S, Loria CM. Association of lipoprotein-associated phospholipase A<sub>2</sub> mass and activity with calcified coronary plaque in young adults. The Cardia study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:216-21.
147. Boekholdt SM, Keller TT, Wareham NJ, Luben R, Bingham SA, Day NE, Sandhu MS, Jukema JW, Kastelein JJP, Hack CE, Khaw KT. Serum levels of type II secretory phospholipase A<sub>2</sub> and the risk of future coronary artery disease in apparently healthy men and women. The EPIC-Norfolk prospective population study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:839-46.
148. Winkler K, Winkelmann BR, Scharnagl H, Hoffmann MM, Grawitz AB, Nauck M, Bohm BO, Marz W. Platelet-activating factor acetylhydrolase activity indicates angiographic coronary artery disease independently of systemic

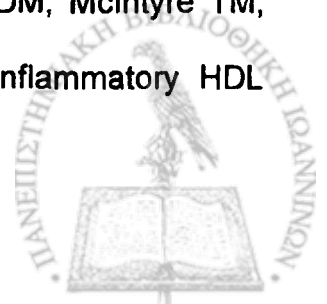


inflammation and other risk factors. The Ludwigshafen risk and cardiovascular health study. *Circulation* 2005;111:980-7.

149. Brilakis ES, McConnell JP, Lennon RJ, Elesber AA, Meyer JG, Berger PB. 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.
150. Ballantyne CM, Hoogeveen RC, Bang H, Coresh J, Folsom AR, Sharrett AR, Wu KK, Myerson M, Chambless LE, Boerwinkle E. The relation of lipoprotein-associated phospholipase A<sub>2</sub> and C-reactive protein to incident stroke in middle-aged men and women: the Atherosclerosis Risk in Communities study. *Proc 5<sup>th</sup> Annual Conference on Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology, San Francisco, CA, 2004.*
151. Khuseyinova N, Imhof A, Rothenbacher D, Trischler G, Kuelb S, Scharnagl H, Marz W, Brenner H, Koenig W. Association between Lp-PLA<sub>2</sub> and coronary artery disease: focus on its relationship with lipoproteins and markers of inflammation and hemostasis. *Atherosclerosis*, in press.
152. Tselepis AD, Karabina SA, Stengel D, Piedagnel R, Chapman MJ, Ninio E. N-linked glycosylation of macrophage-derived PAF-AH is a major determinant of enzyme association with plasma HDL. *J Lipid Res* 2001;42:1645-54.
153. Theilmeyer G, De Geest B, Van Veldhoven PP, Stengel D, Michiels C, Lox M, Landeloos M, Chapman MJ, Ninio E, Collen D, Himpens B, Holvoet P. HDL-associated PAF-AH reduces endothelial adhesiveness in apoE<sup>-/-</sup> mice. *FASEB J* 2000;14:2032-9.



154. Quarck R, De Geest B, Stengel D, Mertens A, Lox M, Theilmeier G, Michiels C, Raes M, Bult H, Collen D, Van Veldhoven P, Ninio E, Holvoet P. Adenovirus-mediated gene transfer of human platelet-activating factor-acetylhydrolase prevents injury-induced neointima formation and reduces spontaneous atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation* 2001;103:2495-500.
155. Rodrigo L, Mackness B, Durrington PN, Hernandez A, Mackness MI. Hydrolysis of platelet-activating factor by human serum paraoxonase. *Biochem J* 2001;354:1-7.
156. Kakafika AI, Xenofontos S, Tsimihodimos V, Tambaki AP, Lourida ES, Kalaitzidis R, Cariolou MA, Elisaf M, Tselepis AD. The PON1 M55L gene polymorphism is associated with reduced HDL-associated PAF-AH activity in normolipidemic and dyslipidemic populations. *J Lipid Res* 2003;44:1919-26.
157. Shih DM, Gu L, Xia YR, Navab M, Li WF, Hama S, Castellani LW, Furlong CE, Costa LG, Fogelman AM, Lusis AJ. Mice lacking serum paraoxonase are susceptible to organophosphate toxicity and atherosclerosis. *Nature* 1998;394:284-7.
158. De Geest B, Stengel D, Landeloos M, Lox M, Le Gat L, Collen D, Holvoet P, Ninio E. Effect of overexpression of human apo A-I in C57BL/6 and C57BL/6 apo E-deficient mice on 2 lipoprotein-associated enzymes, platelet-activating factor acetylhydrolase and paraoxonase. Comparison of adenovirus-mediated human apo A-I gene transfer and human apo A-I transgenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:E68-E75.
159. Van Lenten BJ, Hama SY, de Beer FC, Stafforini DM, McIntyre TM, Prescott SM, La Du BN, Fogelman AM, Navab M. 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.

160. Durrington PN, Mackness B, Mackness MI. Paraonase and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:473-80.
161. Mackness B, Durrington PN, Mackness MI. The paraonase gene family and coronary heart disease. *Curr Opin Lipidol* 2002;13:357-62.
162. Mackness MI, Durrington PN, Mackness B. How high-density lipoprotein protects against the effects of lipid peroxidation. *Curr Opin Lipidol* 2000;11:383-8.
163. Miller GJ, Miller NE. Plasma high-density lipoprotein concentration and the development of ischaemic heart disease. *Lancet* 1975;1:16-9.
164. Castelli WP, Garrison RJ, Wilson PW, Abbot RD, Kalousdiou S, Kammel WB. Incidence of coronary heart disease and lipoprotein cholesterol levels. The Framingham study. *JAMA* 1986;256:2835-8.
165. Tanne D, Yaari S, Goldbourt U. High-density lipoprotein cholesterol and risk of ischaemic stroke mortality. A 21 year follow-up of 8586 men from the Israeli Ischaemic Heart Disease study. *Stroke* 1997;21:83-7.
166. Assmann G, Schulte H, von Eckardstein A, Huang Y. High density lipoprotein cholesterol as a predictor of coronary heart disease. The PROCAM experience and pathophysiological omplications for reverse cholesterol transport. *Atherosclerosis* 1996;124:S11-20.
167. Chait A, Brazg R, Tribble D, Krauss R. Susceptibility of small dense low density lipoproteins to oxidative modification in subjects with the atherogenic lipoprotein phenotype, pattern B. *Am J Med* 1993;94:350-6.



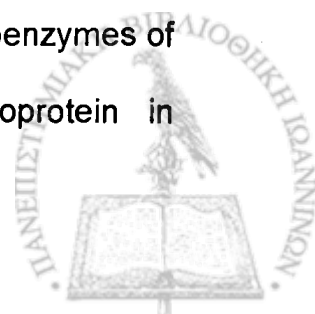


168. Mackness MI, Mackness B, Durrington PN. Paraoxonase and coronary heart disease. *Atheroscler Suppl* 2002;3:49-55.
169. Aviram M. Does paraoxonase play a role in susceptibility to cardiovascular disease? *Molec Med Today*;1999;5:381-6.
170. Navab M, Hama SY, Hough GP, Hedrick CC, Sorenson R, La Du BN, Kobashigawa JA, Fonarow Gc, Berliner JA, Laks H, Fogelman AM. High density associated enzymes: their role in vascular biology. *Curr Opin Lipidol* 1998;9:449-56.
171. Nagano Y, Arai H, Kita T. High density lipoprotein loses its effect to stimulate efflux of cholesterol from foam cells after oxidative modification. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:6457-61.
172. Bergmeier C, Siekmeier R, Gross W. Distribution spectrum of paraoxonase activity in HDL fractions. *Clin Chem* 2004;50:2309-15.
173. Mackness M, Durrington P, Mackness B. Paraoxonase 1 activity, concentration and genotype in cardiovascular disease. *Curr Opin Lipidol* 2004;15:399-404.
174. Watson AD, Berliner JA, Hama SY, La Du BN, Fault KF, Fogelman AM, Navab M. Protective effect of high density lipoprotein associated paraoxonase-inhibition of the biological activity of minimally oxidised low density lipoprotein. *J Clin Invest* 1995;96:2882-91.
175. Aviram M, Billecke S, Sorenson R, Bisgaier C, Newton R, Rosenblat M, Eroglu J, Hsu C, Dunlop C, La Du BN. Paraoxonase active site required for protection against LDL oxidation involves its free sulphhydryl group and is different from that required for its arylesterase/paraoxonase activities: selective



action of human paraoxonase alloenzymes Q and R. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 1998;10:1617-24.

176. Arrol S, Mackness MI, Durrington PN. High-density lipoprotein associated enzymes and the prevention of low-density lipoprotein oxidation. *Eur J Lab Med* 1996;4:33-8.
177. Mackness MI, Arrol S, Abbott CA, Durrington PN. Protection of low-density lipoprotein against oxidative modification by high-density lipoprotein associated paraoxonase. *Atherosclerosis* 1993;104:129-35.
178. Mackness MI, Durrington PN. High density lipoproteins, its enzymes and its potential to influence lipid peroxidation. *Atherosclerosis* 1995;115:243-53.
179. Herrick JB. Certain clinical features of sudden obstruction of the coronary arteries. *JAMA* 1972;59:2015-20.
180. Adkins S, Gan KN, Mody M, La Du BN. Molecular basis for the polymorphic forms of human serum paraoxonase/arylesterase: glutamine or arginine at position 191, for the respective A or B allozymes. *Am J Hum Genet* 1993;52:598-608.
181. Davies HG, Richter RJ, Keifer M, Broomfield CA, Sowalla J, Furlong CE. The effect of the human serum paraoxonase polymorphism is reversed with diazoxon, soman and sarin. *Nat Genet* 1996;14:334-6.
182. Mackness B, Mackness MI, Durrington PN, Arrol S, Evans AE, McMaster D, Ferrieres J, Ruidavets JB, Williams NR, Howard AN. Paraoxonase activity in two healthy populations with differing rates of coronary heart disease. *Eur J Clin Invest* 2000;30:4-10.
183. Mackness MI, Arrol S, Mackness B, Durrington PN. The alloenzymes of paraoxonase determine the effectiveness of high density lipoprotein in



protecting low density lipoprotein against lipid peroxidation. *Lancet* 1997;349:851-2.

184. Mackness B, Mackness MI, Arrol S, Turkie W, Durrington PN. 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.
185. Wheeler JG, Keavney BD, Watkins H, Collins R, Danesh J. Four paraoxonase gene polymorphisms in 11212 cases of coronary heart disease and 12786 controls: meta-analysis of 43 studies. *Lancet* 2004;363:689-95.
186. Lawlor DA, Day INM, Gaunt TR, Hinks LJ, Briggs PJ, Kiessling M, Timpson N, Smith GD, Ebrahim S. The association of the PON1 Q192R polymorphism with coronary heart disease: findings from the British Women's Heart and Health cohort study and a meta-analysis. *BMC genetics* 2004;5:1-12.
187. Mackness B, Davies GK, Turkie W, Lee E, Roberts DH, Hill E, Roberts C, Durrington PN, Mackness MI. Paraoxonase status in coronary heart disease: are activity and concentration more important than genotype? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:1451-7.
188. Leviev I, James RW. Promoter polymorphisms of human paraoxonase PON1 gene and serum activities and concentrations. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:516-21.
189. Brophy VH, Jampsa RL, Clendenning JB, McKinstry LA, Jarvik GP, Furlong CE. Effects of 5' regulatory region polymorphisms on paraoxonase gene (PON1) expression. *Am J Hum Genet* 2001;68:1428-36.
190. Hegele RA, Connelly PW, Scherer SW, Hanley AJG, Harris SB, Tsui LC, Zinman B. Paraoxonase 2 gene (PON2) G148 variant is associated with



elevated fasting plasma glucose in non-insulin dependent diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:3373-7.

- 191.** Mackness B, Durrington PN, Abuashia B, Boulton AJM, Macness MI. Low paraoxonase activity in type II diabetes complicated by retinopathy. *Clin Sci* 2000;98:355-63.
- 192.** Macness MI, Walker CH, Carlson LA. Low A-esterase activity in serum of patients with fish-eye disease. *Clin Chem* 1987;33:587-8.
- 193.** Macness MI, Peuchant E, Dumon MF, Walker CH, Clere M. Absence of A-esterase activity in the serum of a patient with Tangier disease. *Clin Biochem* 1989;22:475-8.
- 194.** James RW, Blatter Garin MC, Calabresi L, Miccoli R, von Eckardstein A, Tilly-Kisi M, Taskinen MR, Assmann G, Franceschini G. Modulated serum activities and concentrations of paraoxonase in high density lipoprotein deficiency states. *Atherosclerosis* 1998;139:77-82.
- 195.** Mackness MI, Harty D, Bhatnagar D, Winocour PH, Arrol S, Ishola M, Durrington PN. Serum paraoxonase activity in familial hypercholesterolaemia and insulin-dependent diabetes mellitus. *Atherosclerosis* 1991;86:193-9.
- 196.** Kordonouri O, James RW, Bennetts JB, Chan A, Kao YL, Danne T, Silink M, Donaghue K. Modulation by blood glucose levels of activity and concentration of paraoxonase in young patients with type I diabetes mellitus. *Metabolism* 2001;50:657-60.
- 197.** Kudchodkar BJ, Lacko AG, Dory L, Fungwe TV. Dietary fat modulates serum paraoxonase activity in rats. *J Nutr* 2000;130:2427-33.



198. Sutherland WHF, Walker RJ, de Jong SA, van Rij AM, Phillips V, Walker HL. Reduced postprandial serum paraoxonase activity after a meal rich in used cooking fat. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 1999;19:1340-7.
199. Shih DM, Gu L, Hama S, Xia YR, Navab M, Fogelman AM, Lusis AJ. Genetic-dietary regulation of serum paraoxonase expression and its role in atherogenesis in a mouse model. *J Clin Invest* 1996;97:1630-9.
200. Mackness MI, Bouiller A, Hennuyer M, Mackness B, Hal M, Tailleux A, Duriez P, Delfly B, Durrington PN, Fruchart JC, Duverger N, Caillaud JM, Castro G. Paraoxonase activity is reduced by a pro-atherosclerotic diet in rabbits. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;269:232-6.
201. Aviram M, Dornfold L, Rosenblat M, Volkova N, Kaplan M, Coleman R, Hayek T, Presser D, Fuhrman B. Pomegranate juice consumption reduces oxidative stress, atherogenic modification of LDL and platelet aggregation: studies in humans and in atherosclerotic apolipoprotein E deficient mice. *Am J Clin Nutr* 2000;71:1062-76.
202. van der Gaag MS, van Tol A, Scheek LM, James RW, Urgert R, Schaafsma G, Hendriks HF. Daily moderate alcohol consumption increases serum paraoxonase activity; a diet controlled randomised intervention study in middle-aged men. *Atherosclerosis* 1999;147:405-10.
203. Kleemola P, Freese R, Jauhiainen M, Pahlman R, Alfthan G, Mutanen M. Dietary determinants of serum paraoxonase activity in healthy humans. *Atherosclerosis* 2002;160:425-32.
204. Aviram M, Rosenblat M, Billecke S, Eroglu J, Sorenson R, Bisgaier CL, Newton RS, La Du BN. Human serum paraoxonase (PON1) is inactivated by



oxidised low density lipoprotein and preserved by antioxidants. *Free Rad Biol Med* 1999;26:892-904.

205. Arrol S, Mackness MI, Durrington PN. Vitamin E supplementation increases the resistance of both LDL and HDL to oxidation and increases cholesteryl ester transfer activity. *Atherosclerosis* 2000;150:129-34.
206. Humphries SE, Morgan L. Genetic risk factors for stroke and carotid atherosclerosis: insights into pathophysiology from candidate gene approaches. *Lancet Neurol* 2004;3:227-36.
207. Sozmen EY, Mackness B, Sozmen B, Durrington PN, Girgin FK, Aslan L, Mackness M. Effect of organophosphate intoxication on human serum paraoxonase. *Human Exp Toxicol* 2002;34:134-7.
208. Haley RW, Billecke S, La Du BN. Association of PON1 type Q (type A) arylesterase activity with neurologic symptom complexes in Gulf war veterans. *Toxicol Appl Pharmacol* 1999;157:227-33.
209. Feingold KR, Memon RA, Moser AH, Grunfeld C. Paraoxonase activity in the serum and hepatic mRNA levels decrease during the acute phase response. *Atherosclerosis* 1998;139:307-15.
210. Hedrick CC, Hassan K, Hough GP, Yoo J, Simzar S, Quinto CR. Short-term feeding of atherogenic diet to mice results in reduction of HDL and paraoxonase that may be mediated by an immune mechanism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:1946-52.
211. Kumon Y, Suehiro T, Ikeda Y, Hashimoto K. Human paraoxonase 1 gene expression by HepG2 cells is downregulated by interleukin-1 $\beta$  and tumor necrosis factor- $\alpha$ , but is upregulated by interleukin-6. *Life Sci* 2003;73:2807-15.



212. Mackness B, Durrington PN, Mackness MI. Human serum paraoxonase. *Gen Pharmacol* 1998;31:329-36.
213. Paragh G, Torocsik D, Seres I, Harangi M, Illyes L, Balogh Z, Kovacs P. 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.
214. Tomas M, Senti M, Garcia-Faria F, Vila J, Torrents A, Covas M, Marrugat J. Effect of simvastatin therapy on paraoxonase activity and related lipoproteins in familial hypercholesterolaemic patients. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 2000;20:2113-9.
215. Aviram M, Rosenblat M, Bisgaier CL, Newton RS. Atorvastatin and gemfibrozil metabolites but not the parents drugs are potent antioxidants against lipoprotein oxidation. *Atherosclerosis* 1998;138:271-80.
216. Paragh G, Balogh Z, Seres I, Harangi M, Boda J, Kovacs P. Effect of gemfibrozil on HDL-associated serum paraoxonase activity and lipoprotein profile in patients with hyperlipidaemia. *Clin Drug Invest* 2000;277-82.
217. Durrington PN, MacInness MI, Bhaltnagar D, Julier K, Prais H, Arrol S, Morgan J, Wood GNI. Effects of two different fibric acid derivatives on lipoproteins, cholesteryl ester transfer, fibrinogen, plasminogen activator inhibitor and paraoxonase activity in type IIb hyperlipoproteinaemia. *Atherosclerosis* 1998;138:217-25.
218. Balogh Z, Fullop P, Seres I, Harangi M, Katona E, Kovacs P, Kostaczky B, Paragh G. Effect of simvastatin on serum paraoxonase activity. *Clin Drug Invest* 2001;21:505-10.



219. Turay J, Gniakova V, Valka J. Changes in paraoxonase and apolipoprotein A-I, B, C-III and E in subjects with combined familial hyperlipoproteinaemia treated with ciprofibrate. *Drugs Exp Clin Res* 2000;26:83-8.
220. McElveen J, Mackness MI, Colley CM, Peard T, Warner S, Walker CH. Distribution of paraoxon hydrolysing activity in the serum of patients after myocardial infarction. *Clin Chem* 1986;32:671-3.
221. Ayub A, Mackness MI, Arrol S, Mackness B, Patel J, Durrington PN. Serum paraoxonase after myocardial infarction. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 1999;19:330-5.
222. Mackness B, Durrington P, McElduff P, Yarnell J, Azam N, Watt M, Mackness M. Low paraoxonase activity predicts coronary events in the Caerphilly prospective study. *Circulation* 2003;107:2775-9.
223. Ikeda Y, Suehiro T, Inoue M, Nakauchi Y, Morita T, Arai K, Hiroyuki I, Kumon Y, Hushimoto K. Serum paraoxonase activity and its relationship to diabetic complications in patients with non insulin dependent diabetes mellitus. *Metabolism* 1998;47:598-602.
224. Abbott CA, Mackness MI, Kumar S, Boulton AJM, Durrington PN. Serum paraoxonase activity, concentration and phenotype distribution in diabetes mellitus and its relationship to serum lipids and lipoproteins. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 1995;15:1812-8.
225. Mackness B, Mackness MI, Arrol S, Turkie W, Julier K, Abuashia B, Miller JE, Boulton AJM, Durrington PN. Serum paraoxonase (PON1) 55 and 192 polymorphism and paraoxonase activity and concentration in non insulin dependent diabetes mellitus. *Atherosclerosis* 1998;139:341-9.



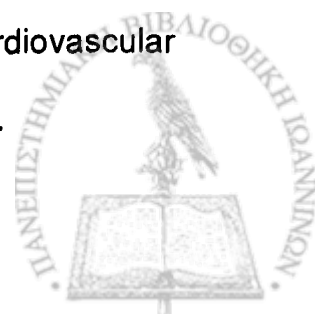


226. Patel BN, Mackness MI, Harty DW, Arrol S, Boot-Handford RP, Durrington PN. Serum esterase activities and hyperlipidaemia in the streptozotocin-diabetic rat. *Biochem Biophys Acta* 1990;1035:113-6.
227. Hasselwander O, McMaster D, Fogarty DG, Maxwell AP, Nichols DP, Young IS. Serum paraoxonase and platelet-activating factor acetylhydrolase in chronic renal failure. *Clin Chem* 1998;44:179-81.
228. Mackness B, Hunt R, Durrington PN, Mackness MI. Increased immunolocalisation of paraoxonase, clusterin and apolipoprotein AI in the human artery wall with progression of atherosclerosis. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 1997;17:1233-8.
229. Raiszadeh F, Solati M, Etemadi A, Azizi F. Serum paraoxonase activity before and after treatment of thyrotoxicosis. *Clin Endocrinol* 2004;60:75-80.
230. Grundy SM, Brewer HB Jr, Cleeman JI, Smith SC Jr, Lenfant C. Definition of metabolic syndrome. Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association Conference on scientific issues related to definition. *Circulation* 2004;109:433-8.
231. Brunzell JD, Ayyobi AF. Dyslipidemia in the metabolic syndrome and type 2 diabetes mellitus. *Am J Med* 2003;115:24S-28S.
232. Hurst RT, Lee RW. Increased incidence of coronary atherosclerosis in type 2 diabetes mellitus: mechanisms and management. *Ann Intern Med* 2003;139:824-34.
233. Garber AJ. The metabolic syndrome. *Med Clin N Am* 2004;88:837-46.
234. Grundy SM, Hansen B, Smith SC, Cleeman JI, Kahn RA. Clinical management of metabolic syndrome. Report of the American Heart Association/National Heart, Lung and Blood Institute/American Diabetes



Association conference on scientific issues related to management. *Circulation* 2004;109:551-6.

235. Panagiotakos DB, Pitsavos C, Chrysohoou C, Skoumas J, Tousoulis D, Toutouza M, Toutouzas P, Stefanadis C. Impact of the lifestyle habits on prevalence of the metabolic syndrome among Greek adults from the ATTICA study. *Am Heart J* 2004;147:106-12.
236. Reaven GM. Banting lecture 1988: role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988;37:1595-607.
237. Rainwater DL. Lipoprotein correlates of LDL particle size. *Atherosclerosis* 2000;148:151-8.
238. Abbasi F, Brown BW, Lamendola C, McLaughlin T, Reaven GM. Relationship between obesity, insulin resistance and coronary heart disease risk. *J Am Coll Cardiol* 2002;40:937-43.
239. Gonzalez MA, Selwyn AP. Endothelial function, inflammation, and prognosis in cardiovascular disease. *Am J Med* 2003;115(8A):99S-106S.
240. Lakka HM, Laaksonen DE, Lakka TA, Niskanen LK, Kumpusalo E, Tuomilehto J, Salonen JT. The metabolic syndrome and total and cardiovascular disease mortality in middle-aged men. *JAMA* 2002;288:2709-16.
241. Wilson PW, D'Angostino RB, Levy D, Belanger AM, Silberhatz H, Kannel WB. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. *Circulation* 1998;97:1837-47.
242. Levantesi G, Macchia A, Marfisi R, Franzosi MG, Maggioni AP, Nicolosi GL, Schweiger C, Tavazzi L, Tognoni G, Valagussa F, Marchioli R; GISSI-Praventione Investigators. Metabolic syndrome and risk of cardiovascular events after myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2005;46:277-83.



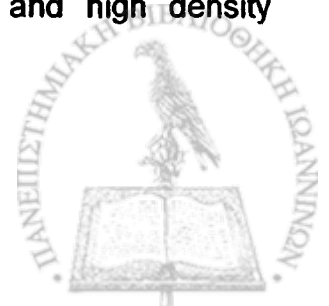
243. Athyros VG, Bouloukos VI, Pehlivanidis AN, Papageorgiou AA, Dionysopoulou SG, Symeonidis AN, Petridis DI, Kapousouzi MI, Satsoglou EA, Mikhailidis DP; MetS-Greece Collaborative Group. The prevalence of the metabolic syndrome in Greece: the MetS-Greece Multicentre Study. *Diabetes Obes Metab* 2005;7:397-405.
244. Athyros VG, Mikhailidis DP, Papageorgiou AA, Didangelos TP, Ganotakis ES, Symeonidis AN, Daskalopoulou SS, Kakafika AI, Elisaf M; MetS-Greece Collaborative Group. Prevalence of atherosclerotic vascular disease among subjects with the metabolic syndrome with or without diabetes mellitus: the MetS-Greece Multicentre Study. *Curr Med Res Opin* 2004;20:1691-1701.
245. Knowler WC, Barrett-Connor E, Fowler SE, Hamman RF, Lachin JM, Walker EA, Nathan DM. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *Diabetes Prevention Program research group. N Engl J Med* 2002;346:393-403.
246. Orchard TJ, Temprosa M, Goldberg R, Haffner S, Ratner R, Marcovina S, Fowler S. The effect of metformin and intensive lifestyle intervention on the metabolic syndrome: the Diabetes Prevention Program randomized trial. *Ann Intern Med* 2005;142:611-9.
247. Rubins HB. Triglycerides and coronary heart disease: implications of recent clinical trials. *J Cardiovasc Risk* 2000;7:339-45.
248. Tenenbaum A, Motro M, Fisman EZ, Tanne D, Boyko V, Behar S. Bezafibrate for the secondary prevention of myocardial infarction in patients with metabolic syndrome. *Arch Intern Med* 2005;165:1154-60.
249. Mahley RW. Apolipoprotein E: Cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. *Science* 1988;240:622-30.



250. Mahley RW, Yadong H. Apolipoprotein E: from atherosclerosis to Alzheimer's disease and beyond. *Curr Opin Lipidol* 1999;10:207-17.
251. Greenow K, Pearce NJ, Ramji DP. The key role of apolipoprotein E in atherosclerosis. *J Mol Med* 2005;83:329-42.
252. Ji Z-S, Fazio S, Mahley RW. Variable heparan sulfate proteoglycan binding of apolipoprotein E variants may modulate the expression of type III hyperlipoproteinemia. *J Biol Chem* 1994;269:13421-8.
253. Beisiegel U, Weber W, Bengtsson-Olivecrona G. Lipoprotein lipase enhances the binding of chylomicrons to low density lipoprotein receptor related protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:8342-6.
254. Ji Z-S, Dichek HL, Miranda RW, Mahley RW. Heparan sulfate proteoglycans participate in hepatic lipase and apolipoprotein E mediated binding and uptake of plasma lipoproteins including high density lipoproteins. *J Biol Chem* 1997;272:31285-92.
255. Salah D, Bohnet K, Gueguen R, Siest G, Visvikis S. Combined effects of lipoprotein lipase and apolipoprotein E polymorphisms on lipid and lipoprotein level in the Stanislas cohort. *J Lipid Res* 1997;38:904-12.
256. Cohn JS, Tremblay M, Amiot M, Bouthillier D, Roy M, Genest J Jr, Davignon J. Plasma concentration of apolipoprotein E in intermediate size remnant-like lipoproteins in normolipidemic and hyperlipidemic subjects. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996;16:149-59.
257. Huang Y, Liu XQ, Rall SC, Taylor JM, von Eckardstein A, Assmann G, Mahley RW. Overexpression and accumulation of apolipoprotein E as a cause of hypertriglyceridemia. *J Biol Chem* 1998;273:26388-93.



258. Huang Y, Liu XQ, Rall SC, Mahley RW. Apolipoprotein E2 reduces the low density lipoprotein level in transgenic mice by impairing lipoprotein lipase mediated lipolysis of triglyceride rich lipoproteins. *Biol Chem* 1998;273:17483-90.
259. Huang Y, Rall SC, Mahley RW. Genetic factors precipitating type III hyperlipoproteinemia in hypolipidemic transgenic mice expressing human apolipoprotein E2. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 1997;17:2817-24.
260. Song Y, Stampfer MJ, Liu S. Meta-analysis: apolipoprotein E genotypes and risk for coronary heart disease. *Ann Intern Med* 2004;141:137-47.
261. Casas JP, Hingorani AD, Bautista LE, Sharma P. Meta-analysis of genetic studies in ischemic stroke: thirty-two genes involving approximately 18,000 cases and 58,000 controls. *Arch Neurol* 2004;61:1652-61.
262. Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). Final report. *Circulation* 2002;24:3143-421.
263. Bairaktari E, Elisaf M, Tzallas C, Karabina SA, Tselepis AD, Siamopoulos KC, Tsolas O. Evaluation of five methods for determining low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) in hemodialysis patients). *Clin Biochem.* 34:593-602 (2001).
264. Rizos E, Tambaki AP, Gazi I, Tselepis AD, Elisaf M. Lipoprotein-associated PAF-acetylhydrolase activity in subjects with the metabolic syndrome. *Prost Leukotr Essent Fatty Acids* 2005;72:203-9.
265. Tambaki AP, Rizos E, Tsimihodimos V, Tselepis AD, Elisaf M. Effects of antihypertensive and hypolipidemic drugs on plasma and high density



lipoprotein associated platelet activating factor acetylhydrolase. *J Cardiovasc Pharmacol Therapeut* 2004;9:91-95.

266. Rizos E, Bairaktari E, Kostoula A, Hasiotis G, Achimastos A, Ganotakis E, Elisaf M, Mikhailidis DP. The combination of nebivolol plus pravastatin is associated with a more beneficial metabolic profile compared to that of atenolol plus pravastatin in hypertensive patients with dyslipidemia: a pilot study. *J Cardiovasc Pharmacol Therapeut* 2003;8:127-34.
267. Caslake MJ, Packard CJ, Suckling KE, Holmes SD, Chamberlain P, Macphee CH. Lipoprotein-associated phospholipase A2, platelet-activating factor acetylhydrolase: a potential new risk factor for coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2000;150:413-9.
268. Reilly MP, Rader DJ. The metabolic syndrome. *Circulation* 2003;108:1546-51.
269. Kereiakes DJ, Willerson JT. Metabolic syndrome epidemic. *Circulation* 2003;108:1552-3.
270. Kudolo GB, Koopmans SJ, Haywood JR, DeFronzo RA. Chronic hyperinsulinemia inhibits platelet-activating factor (PAF) biosynthesis in the rat kidney. *J Lipid Mediat Cell Signal* 1997;16:23-37.
271. Blankenberg S, Stengel D, Rupprecht HJ, Bickel C, Meyer J, Cambien F, Tiret L, Ninio E. Plasma PAF-acetylhydrolase in patients with coronary artery disease: results of a cross-sectional analysis. *J Lipid Res* 2003;44:1381-6.
272. Scott CL. Diagnosis, prevention, and intervention for the metabolic syndrome. *Am J Cardiol* 2003;92(suppl):35i-42i.



273. Ayyobi AF, Brunzell JD. Lipoprotein distribution in the metabolic syndrome, type 2 diabetes mellitus, and familial combined hyperlipidemia. *Am J Cardiol* 2003;92(suppl):27J-33J.
274. Packard CJ. Triacylglycerol-rich lipoproteins and the generation of small, dense low-density lipoprotein. *Biochem Soc Trans* 2003;31:1066-9.
275. Haddy N, De Bacquer D, Chemaly MM, Maurice M, Ehnholm C, Evans A, Sans S, Do Carmo Martins M, De Baker G, Siest G, Visvikis S. The importance of plasma apolipoprotein E concentration in addition to its common polymorphism on inter-individual variation in lipid levels: results from Apo E Europe. *Eur J Hum Genet* 2002;10:841-50.
276. Xia Y, Sass C, Shen X, Siest G, Visvikis S. Associations of apolipoprotein E concentration and polymorphism with lipids and apolipoprotein levels in Chinese from Beijing and Sanghai. *Clin Chem Lab Med* 2000;38:655-9.
277. Satoh K, Imaizumi T-a, Kawamura Y, Yoshida H, Takamatsu S, Takamatsu M. Increased activity of the platelet-activating factor acetylhydrolase in plasma low density lipoprotein from patients with essential hypertension. *Prostaglandins* 1989;37:673-82.
278. Ferre N, Camps J, Fernandez-Ballart J, Arijia V, Murphy MM, Ceruelo S, Biarnes E, Vilella E, Tous M, Joven J. Regulation of serum paraoxonase activity by genetic, nutritional, and lifestyle factors in the general population. *Clin Chem* 2003;49:1491-7.
279. Paragh G, Seres I, Harangi M, Balogh Z, Illyes L, Boda J, Szilvassy Z, Kovacs P. The effect of micronised fenofibrate on paraoxonase activity in patients with coronary heart disease. *Diabetes Metab* 2003;29:613-8.



280. Leviev I, Kalix B, Brulhart Meynet MC, James RW. The paraoxonase PON1 promoter polymorphism C(-107)T is associated with increased serum glucose concentrations in non-diabetic patients. *Diabetologia* 2001;44:1177-83.
281. Yamada A, Shoji T, Tahara H, Emoto M, Nishizawa Y. Effect of insulin resistance on serum paraoxonase activity in a nondiabetic population. *Metabolism* 2001;50:805-11.
282. Senti M, Tomas M, Fito M, Weinbrenner T, Covas MI, Sala J, Masia R, Marrugat J. Antioxidant paraoxonase 1 activity in the metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:5422-6.
283. Garin MCB, Kalix B, Morabia A, James RW. Small, dense lipoprotein particles and reduced paraoxonase-1 in patients with the metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:2264-9.
284. Mackness MI, Durrington PN. HDL, its enzymes and its potential to influence lipid peroxidation. *Atherosclerosis* 1993;104:129-35.
285. Wilson PWF, Grundy SM. The metabolic syndrome. A practical guide to origins and treatment: Part I. *Circulation* 2003;108:1422-5.
286. Shohet RV, Anwar A, Johnston JM, Cohen JC. Plasma platelet-activating factor acetylhydrolase activity is not associated with premature coronary atherosclerosis. *Am J Cardiol* 1999;83:109-11.
287. Zimmerman GA, McIntyre TM, Prescott SM, Stafforini DM. The platelet-activating factor signaling system and its regulators in syndromes of inflammation and thrombosis. *Crit Care Med* 2002;30:S294-301.
288. Li J, Hirose N, Kawamura M, Arai Y. Antiatherogenic effect of angiotensin converting enzyme inhibitor (benazepril) and angiotensin II receptor

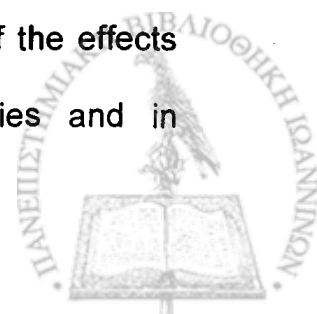




- antagonist (valsartan) in the cholesterol-fed rabbits. *Atherosclerosis* 1999;143:315-26.
289. Cominacini L, Fratta Pasini A, Garbin U, Pastorini AM, Davoli A, Nava C, Campagnola M, Rossato P, Lo Cascio V. Antioxidant activity of different dihydropyridines. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;302:679-84.
290. Seifert T, Schornig O, Arnhold J, Arnold K. Beta-blockers inhibit the modification of low-density lipoproteins by sodium hypochlorite in vitro. *Chem Phys Lipids* 1997;85:13-21.
291. Elisaf M. Effects of fibrates on serum metabolic parameters. *Curr Med Res Opin* 2002;18:269-76.
292. Maron DJ, Fazio S, Linton MF. Current perspectives on statins. *Circulation* 2000;101:207-13.
293. Pessina AC. Metabolic effects and safety profile of nebivolol. *J Cardiovasc Pharmacol* 2001;38:S33-5.
294. McNeely W, Goa KL. Nebivolol in the management of essential hypertension: a review. *Drugs* 1999;57:633-51.
295. Troost R, Schwedhelm E, Rojczyk S, Tsikas D, Frolich JC. Nebivolol decreases systemic oxidative stress in healthy volunteers. *Br J Clin Pharmacol* 2000;50:37-9.
296. Reneland R, Alvarez E, Andersson PE, Haenni A, Byberg L, Lithell H. Induction of insulin resistance by beta-blockade but not ACE-inhibition: long-term study with atenolol or trandolapril. *J Hum Hypertens* 2000;14:175-80.
297. Fogari R, Zoppi A, Corradi L, Preti P, Mugellini A, Lusardi P. Beta-blocker effects on plasma lipids during prolonged treatment of hypertensive patients with hypercholesterolemia. *J Cardiovasc Pharmacol* 1999;33:534-9.



298. Gordon NF, Scott CB, Duncan JJ. Effects of atenolol versus enalapril on cardiovascular fitness and serum lipids in physically active hypertensive men. *Am J Cardiol* 1997;79:1065-9.
299. Aberg H, Morlin C, Lithell H. Different long-term metabolic effects of enalapril and atenolol in patients with mild hypertension. EGTA Group. *J Hum Hypertens* 1995;9:149-53.
300. Pesant Y, Marc-Aurele J, Biemann P, Alaupovic P, Cartier P, Bichet D, Thibault G, Lupien PJ. Metabolic and antihypertensive effects of nebivolol and atenolol in normometabolic patients with mild-to-moderate hypertension. *Am J Ther* 1999;6:137-47.
301. Rabkin SW, Huff MW, Newman C, Sim D, Carruthers SG. Lipids and lipoproteins during antihypertensive drug therapy. Comparison of doxazosin and atenolol in a randomized, double-blind trial: the Alpha Beta Canada Study. *Hypertension* 1994;24:241-8.
302. Lind L, Pollare T, Berne C, Lithell H. Long-term metabolic effects of antihypertensive drugs. *Am Heart J* 1994;128:1177-83.
303. Von Fallois J, Faulhaber HD. Nebivolol, a beta blocker of the 3rd generation: modern therapy of arterial hypertension. Results of a multicenter observation study. *Schweiz Rundsch Med Prax* 2001;90:435-41.
304. Lacourciere Y, Poirier L, Lefebvre J, Provencher P, Arnott W. Comparative effects of a new cardioselective beta-blocker nebivolol and nifedipine sustained-release on 24-hour ambulatory blood pressure and plasma lipoproteins. *J Clin Pharmacol* 1992;32:660-6.
305. Lacourciere Y, Arnott W. Placebo-controlled comparison of the effects of nebivolol and low-dose hydrochlorothiazide as monotherapies and in



combination on blood pressure and lipid profile in hypertensive patients. *J Hum Hypertens* 1994;8:283-8.

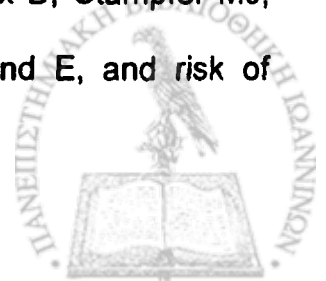
306. Reusch JE. Current concepts in insulin resistance, type 2 diabetes mellitus and the metabolic syndrome. *Am J Cardiol* 2002;90:19G-26G.
307. Makris TK, Stavroulakis GA, Krespi PG, Hatzizacharias AN, Triposkiadis FK, Tsoukala CG, Votteas VV, Kyriakidis MK. Fibrinolytic/hemostatic variables in arterial hypertension: response to treatment with irbesartan or atenolol. *Am J Hypertens* 2000;13:783-8.
308. Fogari R, Zoppi A, Malamani GD, Marasi G, Vanasia A, Villa G. Effects of different antihypertensive drugs on plasma fibrinogen in hypertensive patients. *Br J Clin Pharmacol* 1995;39:471-6.
309. Vyssoulis GP, Marinakis AG, Aznaouridis KA, Karpanou EA, Arapogianni AN, Cokkinos DV, Stefanadis CI. The impact of third-generation beta-blocker antihypertensive treatment on endothelial function and the prothrombotic state: effects of smoking. *Am J Hypertens*. 2004;17:582-9.
310. Jenkins NP, Keevil BG, Hutchinson IV, Brooks NH. Beta-blockers are associated with lower C-reactive protein concentrations in patients with coronary artery disease. *Am J Med* 2002;112:269-74.
311. Homocysteine Studies Collaboration. Homocysteine and risk of ischemic heart disease and stroke: a meta-analysis. *JAMA* 2002;288:2015-22.
312. Virdis A, Ghiadoni L, Salvetti G, Versari D, Taddei S, Salvetti A. Hyperhomocysteinemia: is this a novel risk factor in hypertension? *J Nephrol* 2002;15:414-21.



313. Wocial B, Berent H, Kostrubiec M, Kuczynska K, Kuch-Wocial A, Nieweglowska N. Homocysteine, adrenergic activity and left ventricular mass in patients with essential hypertension. *Blood Press* 2002;11:201-5.
314. Chrysant SG, Chappel C, Farnham DJ, Levin B, Lueg M, McCluskey D, Steiner C. Antihypertensive and metabolic effects of single and combined atenolol regimens. *J Clin Pharmacol* 1992;32:61-5.
315. Lehtonen A. Comparison of the metabolic effects of long-term treatment with pindolol or atenolol by hypertensive patients. *Cardiovasc Drugs Ther* 1988;1:549-51.
316. Helgeland A, Strommen R, Hagelund CH. Enalapril, atenolol, and hydrochlorothiazide in mild to moderate hypertension. A comparative multicentre study in general practice in Norway. *Lancet* 1986;1:872-5.
317. Andersen GS. Atenolol versus bendroflumethiazide in middle-aged and elderly hypertensives. *Acta Med Scand* 1985;218:165-72.
318. Salvadeo A, Villa G, Segagni S, Piazza V, Galli F. Pressure and humoral changes induced by atenolol and hydrochlorothiazide+amiloride, alone and in free combination. A comparative between-patient study. *Int J Clin Pharmacol Res* 1983;3:371-7.
319. Gostick NK, Mayhew SR, Million R, Sagar D, Suxena SR, Ingram DF, Barmer NP. A dose-response study of atenolol in mild to moderate hypertension in general practice. *Curr Med Res Opin* 1977;5:179-84.
320. Krusell LR, Jespersen LT, Christensen CK. Proximal tubular function in essential hypertensives on beta-blocker therapy with atenolol. *Blood press* 1997;6:166-70.



321. Franse LV, Pahor M, Di Bari M, Shorr RI, Wan JY, Somes GW, Applegate WB. Serum uric acid, diuretic treatment and risk of cardiovascular events in the Systolic Hypertension in the Elderly program (SHEP). *J Hypertens* 2000;18:1149-54.
322. Poirier L, Cleroux J, Nadeau A, Lacourciere Y. Effects of nebivolol and atenolol on insulin sensitivity and haemodynamics in hypertensive patients. *J Hypertens* 2001;19:1429-35.
323. Kuperstein R, Sasson Z. Effects of antihypertensive therapy on glucose and insulin metabolism and on left ventricular mass: a randomized, double-blind, controlled study of 21 obese hypertensives. *Circulation* 2000;102:1802-6.
324. Auer J, Berent R, Weber T, Eber B. Clinical significance of pleiotropic effects of statins: lipid reduction and beyond. *Curr Med Chem* 2002;9:1831-50.
325. Simes RJ, Marschner IC, Hunt D, Colquhoun D, Sullivan D, Stewart RA, Hague W, Keech A, Thompson P, White H, shaw J, Tonkin A; LIPID study investigators. Relationship between lipid levels and clinical outcomes in the Long-term Intervention with Pravastatin in Ischemic Disease (LIPID) trial: to what extent is the reduction in coronary events with pravastatin explained by on-study lipid levels? *Circulation* 2002;105:1162-9.
326. Ballantyne CM, Andrews TC, Hsia JA, Kramer JH, Shear C; ACCESS study group. Atorvastatin comparative cholesterol efficacy and safety study. Correlation of non-high-density lipoprotein cholesterol with apolipoprotein B: effect of 5 hydroxymehtylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors on non-high-density lipoprotein cholesterol levels. *Am J Cardiol* 2001;88:265-9.
327. Sacks FM, Alaupovic P, Moye LA, Cole TG, Sussex B, Stampfer MJ, Pfeffer MA, Braunwald E. VLDL, apolipoproteins B, CII, and E, and risk of



recurrent coronary events in the Cholesterol and Recurrent Events (CARE) trial. *Circulation* 2000;102:1886-92.

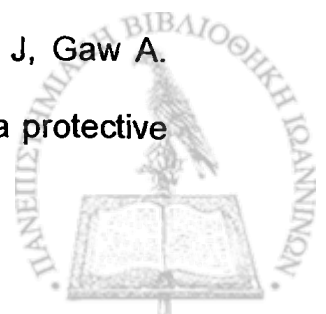
328. Dallongeville J, Fruchart JC, Maigret P, Bertolini S, Bon GB, Campbell MM, Farnier M, Langan J, Mahla G, Pauciuolo P, Sirtori C. Double-blind comparison of apolipoprotein and lipoprotein particle lowering effects of atorvastatin and pravastatin monotherapy in patients with primary hypercholesterolemia. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 1998;3:103-10.
329. Lijnen P, Celis H, Desager JP, Fagard R. Changes in plasma lipids, lipoproteins and apolipoproteins in hypercholesterolaemic patients treated with pravastatin. *J Hum Hypertens* 1995;9:557-64.
330. Hunninghake DB, Stein EA, Mellies MJ. Effects of one year of treatment with pravastatin, an HMG-CoA reductase inhibitor, on lipoprotein a. *J Clin Pharmacol* 1993;33:574-80.
331. Bard JM, Parra HJ, Douste-Blazy P, Fruchart JC. Effect of pravastatin, an HMG CoA reductase inhibitor, and cholestyramine, a bile acid sequestrant, on lipoprotein particles defined by their apolipoprotein composition. *Metabolism* 1990;39:269-73.
332. Cheung MC, Austin MA, Moulin P, Wolf AC, Cryer D, Knopp RH. Effects of pravastatin on apolipoprotein-specific high density lipoprotein subpopulations and low density lipoprotein subclass phenotypes in patients with primary hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 1993;102:107-19.
333. Klausen IC, Gerdes LU, Meinertz H, Hansen FA, Faergeman O. Apolipoprotein(a) polymorphism predicts the increase of Lp(a) by pravastatin in patients with familial hypercholesterolaemia treated with bile acid sequestration. *Eur J Clin Invest* 1993;23:240-5.



334. Branchi A, Rovellini A, Fiorenza AM, Sommariva D. Effects of bezafibrate and of 2 HMG-CoA reductase inhibitors on lipoprotein (a) level in hypercholesterolemic patients. *Int J Clin Pharmacol Ther* 1995;33:345-50.
335. Cobbaert C, Jukema JW, Zwinderman AH, Withagen AJ, Lindemans J, Bruschke AV. Modulation of lipoprotein(a) atherogenicity by high density lipoprotein cholesterol levels in middle-aged men with symptomatic coronary artery disease and normal to moderate elevated serum cholesterol. Regression Growth Evaluation Statin Study (REGRESS) Study Group. *J Am Coll Cardiol* 1997;30:1491-9.
336. Dobs AS, Prasad M, Goldberg A, Guccione M, Hoover DR. Changes in serum lipoprotein(a) in hyperlipidemic subjects undergoing long-term treatment with lipid-lowering drugs. *Cardiovasc Drugs Ther* 1995;9:677-84.
337. Fieseler HG, Armstrong VW, Wieland E, Thiery J, Schutz E, Walli AK, Seidel D. Serum Lp(a) concentrations are unaffected by treatment with the HMG-CoA reductase inhibitor pravastatin: results of a 2-year investigation. *Clin Chim Acta* 1991;204:291-300.
338. Balk EM, Lau J, Goudas LC, Jordan HS, Kupelnick B, Kim LU, Karas RH. Effects of statins on nonlipid serum markers associated with cardiovascular disease. A systematic review. *Ann Intern Med* 2003;139:670-82.
339. Maison P, Mennen L, Sapinho D, Balkau B, Sigalas J, Chesnier MC, Eschwege E; D.E.S.I.R. study group. A pharmacoepidemiological assessment in the effect of statins and fibrates on fibrinogen concentration. *Atherosclerosis* 2002;160:155-60.
340. White CM. Pharmacological effects of HMG-CoA reductase inhibitors other than lipoprotein modulation. *J Clin Pharmacol* 1999;39:111-8.



341. Rosenson RS, Tangney CC, Schaefer EJ. Comparative study of HMG-CoA reductase inhibitors on fibrinogen. *Atherosclerosis* 2001;155:463-6.
342. Song JC, White CM. Do HMG-CoA reductase inhibitors affect fibrinogen? *Ann Pharmacother* 2001;35:236-41.
343. Albert MA, Danielson E, Rifai PM, Ridker PM; PRINCE investigators. Effect of statin therapy on C-reactive protein levels: the pravastatin inflammation/CRP evaluation (PRINCE): a randomized trial and cohort study. *JAMA* 2001;286:64-70.
344. Ridker PM, Rifai N, Pfeffer MA, Sacks F, Braunwald E. Long-term effects of pravastatin on plasma concentration of C-reactive protein. The Cholesterol and Recurrent Events (CARE) Investigators. *Circulation* 1999;100:230-5.
345. Nissen SE, Tuzcu EM, Schoenhagen P, Crowe T, Sasiela WJ, Tsai J, Orazem J, Magorien RD, O'Shaughnessy C, Ganz P. Statin therapy, LDL cholesterol, C-reactive protein, and coronary artery disease. Reversal of Atherosclerosis with Aggressive Lipid Lowering (REVERSAL). *N Engl J Med*. 2005;352:29-38.
346. Ridker PM, Cannon CP, Morrow D, Rifai N, Rose LM, McCabe CH, Pfeffer MA, Braunwald E. C-reactive protein levels and outcomes after statin therapy. Pravastatin or Atorvastatin Evaluation and Infection Therapy - Thrombolysis in Myocardial Infarction 22 (PROVE IT-TIMI 22). *N Engl J Med*. 2005;352:20-8.
347. Freeman DJ, Norrie J, Sattar N, Neely RD, Cobbe SM, Ford I, Isles C, Lorimer AR, Macfarlane PW, McKillop JH, Packard CJ, Shepherd J, Gaw A. Pravastatin and the development of diabetes mellitus: evidence for a protective





treatment effect in the West of Scotland Coronary Prevention study. *Circulation* 2001;103:357-62.

348. Athyros VG, Elisaf M, Papageorgiou AA, Symeonidis AN, Pehlivanidis AN, Bouloukos VI, Milionis HJ, Mikhailidis DP. Effect of statins versus untreated dyslipidemia on serum uric acid levels in patients with coronary heart disease: a subgroup analysis of the GREek Atorvastatin and Coronary-heart-disease Evaluation (GREACE) study. *Am J Kidney Dis.* 2004;43:589-99.
349. Milionis HJ, Kakafika AI, Tsouli SG, Athyros VG, Bairaktari ET, Seferiadis KI, Elisaf MS. Effects of statin treatment on uric acid homeostasis in patients with primary hyperlipidemia. *Am Heart J.* 2004;148:635-40.
350. Kakafika A, Tsimihodimos V, Elisaf M. Effect of atorvastatin on serum uric acid levels. *Atherosclerosis* 2001;158:255.
351. Youssef F, Seifalian AM, Jagroop IA, Myint F, Baker D, Mikhailidis DP, Hamilton G. The early effect of lipid lowering treatment on carotid and femoral intima media thickness (IMT). *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2002;23:258-364.
352. Kakafika A, Liamis G, Elisaf M, Mikhailidis DP. Effect of atorvastatin on serum creatinine levels. *Curr Med Res Opin* 2001;17:230-231.
353. Schaefer EJ, McNamara JR, Asztalos BF, Tayler T, Daly JA, Gleason JL, Seman LJ, Ferrari A, Rubenstein JJ. Effects of atorvastatin versus other statins on fasting and postprandial C-reactive protein and lipoprotein-associated phospholipase A<sub>2</sub> in patients with coronary heart disease versus control subjects. *Am J Cardiol* 2005;95:1025-1032.



## ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

1. Rizos E, Tambaki AP, Gazi I, Tselepis AD, Elisaf M. Lipoprotein-associated PAF-acetylhydrolase activity in subjects with the metabolic syndrome. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2005;72(3):203-209.
2. Tambaki AP, Rizos E, Tsimihodimos V, Tselepis AD, Elisaf M. Effects of antihypertensive and hypolipidemic drugs on plasma and high-density lipoprotein-associated platelet activating factor-acetylhydrolase activity. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 2004;9(2):91-95.
3. Rizos E, Bairaktari E, Kostoula A, Hasiotis G, Achimastos A, Ganotakis E, Elisaf M, Mikhailidis DP. The combination of nebivolol plus pravastatin is associated with a more beneficial metabolic profile compared to that of atenolol plus pravastatin in hypertensive patients with dyslipidemia: a pilot study. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 2003;8(2):127-134.

