



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ
Β' ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

**ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΑΘΕΡΩΝ ΣΥΝΔΥΑΣΜΩΝ ΒΑΛΣΑΡΤΑΝΗΣ ΜΕ
ΥΔΡΟΧΛΩΡΟΘΕΙΑΖΙΔΗΉ ΜΕ ΑΜΛΟΔΙΠΙΝΗ ΣΤΗ ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ
ΑΡΤΗΡΙΑΚΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΚΑΙ ΣΤΙΣ ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ**

**ΧΡΙΣΤΟΓΙΑΝΝΗΣ ΛΕΩΝΙΔΑΣ
ΙΑΤΡΟΣ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2019



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ
Β' ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

**ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΑΘΕΡΩΝ ΣΥΝΔΥΑΣΜΩΝ ΒΑΛΣΑΡΤΑΝΗΣ ΜΕ
ΥΔΡΟΧΛΩΡΟΘΕΙΑΖΙΔΗΉ ΜΕ ΑΜΛΟΔΙΠΙΝΗ ΣΤΗ ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ
ΑΡΤΗΡΙΑΚΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΚΑΙ ΣΤΙΣ ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ**

**ΧΡΙΣΤΟΓΙΑΝΝΗΣ ΛΕΩΝΙΔΑΣ
ΙΑΤΡΟΣ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2019

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

Ημερομηνία αίτησης του κ. Χριστογιάννη Λεωνίδα: 17-1-2008

Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 628^α/12-2-2008

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

Επιβλέπων

Ελισάφ Μωυσής, Καθηγητής Παθολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Μέλη

Τσελέπης Αλέξανδρος Καθηγητής Βιοχημείας του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Μηλιώνης Χαράλαμπος, Επίκουρος Καθηγητής του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Ημερομηνία ορισμού θέματος: 12-3-2008

«Συγκριτική επίδραση σταθερών συνδυασμών βαλσαρτάνης με υδροχλωροθειαζίδη ή με αμλοδιπίνη στη ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης και στις μεταβολικές παραμέτρους»

ΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ 887α/12-3-2019

Ελισάφ Μωυσής	Καθηγητής Παθολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Μηλιώνης Χαράλαμπος	Καθηγητής Παθολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Τσελέπης Αλέξανδρος	Καθηγητής Βιοχημείας-Κλινικής Χημείας του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Λιάμης Γεώργιος	Αναπληρωτής Καθηγητής Παθολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Λυμπερόπουλος Ευάγγελος	Αναπληρωτής Καθηγητής Παθολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Τσιάρα Σταυρούλα	Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παθολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Τσιμχόδημος Βασίλειος	Αναπληρωτής Καθηγητής Παθολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Έγκριση Διδακτορικής Διατριβής με βαθμό «ΑΡΙΣΤΑ» στις 3-4-2019

Ιωάννινα 8-4-2019

ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΤΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

Άννα Μπατιστάτου

Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομίας

Η Γραμματέας του Τμήματος

ΜΑΡΙΑ ΚΑΠΙΤΟΠΟΥΛΟΥ

Στους γονείς μου

Στη σύζυγό μου και στους γιους μου

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα Διδακτορική Διατριβή εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Βιοχημείας του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων και στο Βιοχημικό Εργαστήριο του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων, σε συνεργασία με το Ιατρείο Μελέτης των Διαταραχών του Μεταβολισμού των Λιπιδίων του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων.

Κύριος εμπνευστής της συγκεκριμένης μελέτης ήταν ο Δάσκαλός μου στην Ιατρική και επιβλέπων την παρούσα Διδακτορική Διατριβή, κ. Ελισάφ Μωυσής, Καθηγητής Παθολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Χάρη στη διαρκή καθοδήγησή του, τις πολύτιμες συμβουλές του και την άριστη συνεργασία μας ήταν εφικτή η ολοκλήρωση της παρούσας Διδακτορικής Διατριβής. Θα ήθελα να τον ευχαριστήσω για τη μακροχρόνια συνεργασία μας και τις πολύτιμες γνώσεις που αποκόμισα κατά τη διάρκειά της. Αισθάνομαι ιδιαίτερη τιμή για τη δυνατότητα που μου δόθηκε να συνεργαστώ μαζί του.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Τσελέπη Αλέξανδρο, Καθηγητή Βιοχημείας – Κλινικής Χημείας του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, ο οποίος με μύησε στον κόσμο της βασικής

έρευνας και μου προσέφερε τη διαρκή στήριξή του και την επιστημονική καθοδήγησή του, ώστε να πραγματοποιηθεί η ολοκλήρωση της παρούσας Διδακτορικής Διατριβής.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να απευθύνω στον κ. Μηλιώνη Χαράλαμπο, Καθηγητή Παθολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, για τη συνεχή και άκοπη υποστήριξή του και βοήθειά του, από τη στρατολόγηση ασθενών και τη στατιστική επεξεργασία των δεδομένων, μέχρι την ολοκλήρωση της παρούσας Διδακτορικής Διατριβής.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω την κ. Ελένη Μπαϊρακτάρη, Καθηγήτρια Κλινικής Χημείας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, για το ενδιαφέρον και τη βοήθειά της, καθώς και για τη διαρκή υποστήριξη που είχα από το προσωπικό του Εργαστηρίου της και ιδιαίτερα από την κ. Κωσταρά Χριστίνα, Πανεπιστημιακή Υπότροφο.

Ξεχωριστά θα ήθελα να ευχαριστήσω τους Ιατρούς της Β' Παθολογικής Κλινικής κ. Λιάμη Γεώργιο, Αναπληρωτή Καθηγητή Παθολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, κ. Λυμπερόπουλο Ευάγγελο, Αναπληρωτή Καθηγητή Παθολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, κ. Ρίζο Ευάγγελο, Παθολόγο, Διευθυντή ΕΣΥ, κ. Τσιμιχόδημο Βασίλειο, Αναπληρωτή Καθηγητή Παθολογίας του

Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων και κ. Τσιάρα Σταυρούλα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παθολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, για τη στήριξη και βοήθεια που μου προσέφεραν και ιδιαίτερα στη στρατολόγηση ασθενών.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στο φίλο μου Μιχάλη Κωσταπάνο, Consultant Physician, Addenbrooke's Hospital, Cambridge University Hospitals, NHS Foundation Trust, για την πολύτιμη και διαρκή βοήθεια που μου προσέφερε, από τη στρατολόγηση ασθενών, μέχρι τη στατιστική επεξεργασία των δεδομένων και τη συγγραφή της παρούσας Διδακτορικής Διατριβής.

Θα ήθελα ακόμη να ευχαριστήσω τους φίλους και συνεργάτες μου κ. Φλωρεντίν Ματίλντα, Παθολόγο, κ. Αγγουρίδη Άρη-Δημήτριο, Παθολόγο, κ. Λαγό Κωνσταντίνο, Αιματολόγο, κ. Καζάκου Πηνελόπη, Παθολόγο, κ. Ρίζο Χρήστο, Παθολόγο, για τη συμβολή τους στη συλλογή και αποθήκευση των βιολογικών δειγμάτων. Θερμές ευχαριστίες θα ήθελα να απευθύνω στην κ. Ντόντη Ρέα, Νοσηλεύτρια του Ιατρείου Μελέτης των Διαταραχών του Μεταβολισμού των Λιπιδίων του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων, για την άριστη συνεργασία μας και την πολύτιμη βοήθεια που μου προσέφερε.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω όλο το προσωπικό του Εργαστηρίου Βιοχημείας του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων και ιδιαίτερα τον κ. Τέλλη Κωνσταντίνο για τη διαρκή βοήθεια και υποστήριξη που μου παρείχε.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τη σύζυγό μου, Χάριν-Μυρτώ Νάνου, για την υπομονή, την ενθάρρυνση και την υποστήριξη που μου προσέφερε, καθώς και τους γονείς μου, Γεώργιο και Παρθενία, για την αμέριστη συμπαράστασή τους.

Ιωάννινα, Μάιος 2019

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ - ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. ΑΡΤΗΡΙΑΚΗ ΥΠΕΡΤΑΣΗ

1.1 Ιστορία της υπέρτασης

1.2 Επιδημιολογικά δεδομένα

1.3 Περιβαλλοντικοί παράγοντες που επηρεάζουν την αρτηριακή πίεση

1.4 Γονίδια και αρτηριακή υπέρταση

1.5 Αιμοδυναμική της υπέρτασης

1.6 Παθογενετικοί μηχανισμοί ιδιοπαθούς ΑΥ

1.7 Καρδιαγγειακή νόσος

1.8 Επιπλοκές ΑΥ

1.9 Στάδια αρτηριακής υπέρτασης

1.10 Τιμές στόχοι στην αντιμετώπιση της ΑΥ

1.11 Αντιμετώπιση ΑΥ

1.11.1 Μη φαρμακευτικές παρεμβάσεις - Υγιεινοδιαιτητική αγωγή

1.11.2 Φαρμακευτικές παρεμβάσεις για την αντιμετώπιση της ΑΥ

1.11.2.1 Θειαζιδικά διουρητικά

1.11.2.2 Ανταγωνιστές διαύλων ασβεστίου (Calcium channel blockers – CCBs)

1.11.2.3 Φάρμακα που παρεμβαίνουν στον άξονα ρενίνης αγγειοτενσίνης αλδοστερόνης (RAAS)

A) Αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης (AMEA)

B) Ανταγωνιστές των υποδοχέων της αγγειοτενσίνης (ARBs)

Γ) Αναστολείς της ρενίνης

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. ΥΔΡΟΧΛΩΡΟΘΕΙΑΖΙΔΗ (HCTZ)

2.1 Γενικά

2.2 Η HCTZ στις κλινικές μελέτες

2.2.1 HCTZ έναντι εικονικού φαρμάκου

2.2.2. HCTZ έναντι χλωροθαλιδόνης

2.2.3. HCTZ έναντι αμλοδιπίνης

2.2.4. HCTZ έναντι AMEA

2.3. Πλειοτροπικές δράσεις HCTZ

2.4. Βιοχημικά και φαρμακοκινητικά χαρακτηριστικά HCTZ

2.5 Ανεπιθύμητες ενέργειες της HCTZ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. ΑΜΛΟΔΙΠΙΝΗ

3.1. Γενικά

3.2. Η αμλοδιπίνη στις κλινικές μελέτες

3.2.1. Μελέτη ALLHAT

3.2.2. Μελέτη VALUE

3.2.3. Μελέτη CAMELOT

3.2.4. Μελέτη ASCOT-BPLA

3.2.5. Άλλες κλινικές μελέτες

3.3. Πλειοτροπικές δράσεις αμλοδιπίνης

3.4. Βιοχημικά και φαρμακοκινητικά χαρακτηριστικά αμλοδιπίνης

3.5 Ανεπιθύμητες ενέργειες της αμλοδιπίνης

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. ΒΑΛΣΑΡΤΑΝΗ

4.1. Γενικά

4.2. Η βαλσαρτάνη στις κλινικές μελέτες

4.2.1. Βαλσαρτάνη έναντι εικονικού φαρμάκου

4.2.2. Βαλσαρτάνη έναντι CCB

4.2.3. Βαλσαρτάνη έναντι AMEA

4.3. Πλειοτροπικές δράσεις της βαλσαρτάνης

4.4. Βιοχημικά και φαρμακοκινητικά χαρακτηριστικά βαλσαρτάνης

4.5 Ανεπιθύμητες ενέργειες της βαλσαρτάνης

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5. ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΕΙΔΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΠΟΥ

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΘΗΚΑΝ ΣΤΗ ΜΕΛΕΤΗ

5.1 ΜΙΚΡΑ ΠΥΚΝΑ LDL (sdLDL) ΣΩΜΑΤΙΔΙΑ

5.1.1 Σχηματισμός των sdLDL σωματιδίων

5.1.2 Αθηρογόνος δυνατότητα των sdLDL σωματιδίων

5.1.3 Συσχέτιση με την εμφάνιση της ΚΝ

5.2 Υποκλάσματα της HDL

**5.3 Η ΣΥΝΔΕΔΕΜΕΝΗ ΜΕ ΛΙΠΟΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΦΩΣΦΟΛΙΠΑΣΗ Α2 (ΛΙΠΟΡΡΟΤΕΙΝ
ASSOCIATED PHOSPHOLIPASE Α2, LpPLA2)**

5.3.1 Ο παράγοντας ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (PAF)

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

5.3.3 Συσχέτιση της LpPLA2 με την εμφάνιση της καρδιαγγειακής νόσου

5.4 ΑΠΟΛΙΠΟΠΡΩΤΕΙΝΗ C-II ΚΑΙ C-III

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

6.1 Υλικά και μέθοδοι

6.1.1 Κριτήρια εισαγωγής στη μελέτη

6.1.2 Κριτήρια αποκλεισμού από τη μελέτη

6.1.3 Φαρμακευτική αγωγή

6.1.4 Διάρκεια της μελέτης

6.1.5 Συμμόρφωση στη θεραπεία

6.1.6 Συλλογή δεδομένων

6.1.6.1 Ιστορικό

6.1.6.2 Αντικειμενική εξέταση

6.1.6.3 Εργαστηριακός έλεγχος

6.1.6.4 ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΤΩΝ ΛΙΠΟΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΥΨΗΛΗΣ ΠΥΚΝΟΤΗΤΑΣ ΑΠΟ ΠΛΗΡΕΣ ΠΛΑΣΜΑ

6.1.6.4.1 Αρχή της μεθόδου

6.1.6.4.2 Υλικά και όργανα

6.1.6.4.3 Πειραματική πορεία

6.1.6.5 ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΥΠΟΚΛΑΣΜΑΤΩΝ ΤΩΝ LDL ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΛΙΠΟPRINT LDL SYSTEM

6.1.6.5.1 Αρχή της μεθόδου

6.1.6.5.2 Υλικά και όργανα

6.1.6.5.3 Πειραματική πορεία

6.1.6.5.4 Σημειώσεις

6.1.6.6 ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΥΠΟΚΛΑΣΜΑΤΩΝ ΤΩΝ HDL ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΛΙΠΟPRINT HDL SYSTEM

6.1.6.6.1 Αρχή της μεθόδου

6.1.6.6.2 Υλικά και όργανα

6.1.6.6.3 Πειραματική πορεία**6.1.6.6.4 Σημειώσεις****6.1.6.7 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΕΝΖΥΜΙΚΗΣ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ LpPLA2****6.1.6.7.1 Αρχή της μεθόδου****6.1.6.7.2 Υλικά και όργανα****6.1.6.7.3 Διαλύματα εργασίας****6.1.6.7.4 Πειραματική πορεία****6.1.6.8 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ APOC-II****6.1.6.8.1 Αρχή της μεθόδου****6.1.6.8.2 Περιεχόμενα του κιτ****6.1.6.8.3 Περιγραφή της διαδικασίας****6.1.6.8.4 Ευαισθησία, ειδικότητα και επαναληψιμότητα της μεθόδου****6.1.6.8.5 Σημειώσεις****6.1.6.9 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ APOC-III****6.1.6.9.1 Αρχή της μεθόδου****6.1.6.9.2 Περιεχόμενα του κιτ****6.1.6.9.3 Περιγραφή της διαδικασίας****6.1.6.9.4 Ευαισθησία, ειδικότητα και επαναληψιμότητα της μεθόδου****6.1.6.9.5 Σημειώσεις**

6.1.6.10 Εργαστηριακή εκτίμηση της πρωτεϊνουρίας και της κλασματικής απέκκρισης διαλυτών ουσιών στα ούρα

6.2 Στατιστική ανάλυση

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

7.1 Δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού της μελέτης

7.2 Συμμόρφωση στη θεραπεία – Ανεπιθύμητες ενέργειες

7.3 Επίδραση των συνδυασμών VH και VA στα επίπεδα της ΑΠ

7.4 Επίδραση στην ομοιοστασία του ουρικού οξέος

7.5 Επίδραση στη νεφρική λειτουργία και την πρωτεϊνουρία

7.6 Επίδραση στο μεταβολισμό των υδατανθράκων

7.7 Επίδραση στο λιπιδαιμικό προφίλ

7.8 Επίδραση στα υποκλάσματα των LDL

7.9 Επίδραση στα υποκλάσματα των HDL

7.10 Επίδραση στην ενεργότητα της LpPLA2 του πλάσματος

7.11 Επίδραση στα επίπεδα της hsCRP

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

8.1 Επίδραση στη νεφρική λειτουργία και την πρωτεϊνουρία

8.2 Επίδραση στα υποκλάσματα των LDL

8.3 Επίδραση στα υποκλάσματα των HDL

8.4 Επίδραση στην ενεργότητα της LpPLA2

8.5 Επίδραση στο μεταβολισμό των πλούσιων σε TRG λιποπρωτεϊνών

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΗΝ ΑΓΓΛΙΚΗ ΓΛΩΣΣΑ

Δημοσίευση που προέκυψε από την παρούσα διδακτορική διατριβή

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Συντομογραφίες

a1M = a1 microglobulin

ACE = angiotensin-converting enzyme

ACEI = angiotensin-converting enzyme inhibitors

Alb = albumin

AME = apparent mineralocorticoid excess

Apo = apolipoprotein

APOC-II = apolipoprotein C-II

APOC-III = apolipoprotein C-III

ARBs = Angiotensin Receptor Blockers

AT1 = Angiotensin II receptor, type 1

AT2 = Angiotensin II receptor, type 2

ATII = Angiotensin II

AUC = area under the curve

b.i.d. = bis in die (twice a day)

BMI = Body Mass Index

CCBs = Calcium channel blockers

CETP = Cholesteryl ester transfer protein

Cl⁻ = χλώριο

C_{max} = maximum concentration

CNS = central nervous system

CPM = Counts per minute

CRP = C reactive protein

CRP = C reactive protein (C αντιδρώσα πρωτεΐνη)

CYP3A4 = Cytochrome P450 3A4

DASH = Dietary Approaches to Stop Hypertension

DBP = Diastolic Blood Pressure

DHCCBs = dihydropyridinic Calcium channel blockers

DRI = Direct renin inhibitors

EDCFs = endothelium-dependent contracting factors

EDTA = Ethylenediaminetetraacetic acid

eGFR = Estimated Glomerular Filtration Rate

eNOS = Endothelial nitric oxide synthase

ER = extended release

ESC = European Society of Cardiology

ESH = European Society of Hypertension

FDA = U.S. Food and Drug Administration

FE = Fractional Excretion

GITS = gastrointestinal-transport system

GRA = glucocorticoid-remediable aldosteronism

HbA1c = glycated haemoglobin

HCTZ = hydrochlorothiazide

HDL = high density lipoprotein

HL = lipoprotein lipase

HOMA-IR = homeostatic model assessment - insulin resistance

hs-CRP = high sensitivity C reactive protein

IDL = intermediate-density lipoprotein

IgG = Immunoglobulin G

JNC = Joint National Committee

K⁺ = κάλιο

IbLDL = large and buoyant LDL

LDL = Low Density Lipoprotein

LDL-R = Low-Density Lipoprotein Receptor

LPL = Lipoprotein lipase

LpPLA2 = Lipoprotein associated phospholipase A2

lysoPC = Lysophosphatidylcholine

mRNA = Messenger Ribonucleic acid

MRP-4 = Multidrug resistance-associated protein 4

Na⁺ = νάτριο

NADH = Nicotinamide adenine dinucleotide

NADP = Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

NCEP-ATPIII = National Cholesterol Education Program - Adult Treatment Panel III

NO = nitrogen monoxide

NYHA = New York Heart Association

OxNEFA = oxidized nonesterified fatty acids

PAF = platelet activating factor

PAF-AH = platelet-activating factor acetylhydrolase

RAAS = renin–angiotensin–aldosterone system

SCr = Serum creatinin

sdLDL = small dense Low Density Lipoprotein

SR = slow release

t.i.d. = ter in die (three times a day)

TCA = trichloroacetic acid (τριχλωροξικό οξύ)

TCHOL = total cholesterol

Tmax = the time taken to reach the maximum concentration

TPR = total proteins

TRG = triglycerides

UA = uric acid

VLDL = Very-low-density lipoprotein

AEE = αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο

AK = αριστερή κοιλία

AMEA = αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης

Άξονας PAA = άξονας ρενίνης αγγειοτενσίνης αλδοστερόνης

ΑΠ = αρτηριακή πίεση

ATI = Angiotensin I

AY = αρτηριακή υπέρταση

AYA = ανταγωνιστές των υποδοχέων της αγγειοτενσίνης

ΔΑΠ = διαστολική αρτηριακή πίεση

ΔΔΑΠ = διαφορά διαστολικής αρτηριακής πίεσης

ΗΠΑ = Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής

ΚΑ = καρδιακή ανεπάρκεια

ΚΑΝ = καρδιαγγειακή νόσος

ΜετΣ = μεταβολικό σύνδρομο

ΟΕΜ = οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου

ΣΑΠ = συστολική αρτηριακή πίεση

ΔΣΑΠ = διαφορά συστολικής αρτηριακής πίεσης

ΣΒ = σωματικό βάρος

ΣΔ = σακχαρώδης διαβήτης

ΣΝ = στεφανιαία νόσος

Συνδυασμός VA = συνδυασμός βαλσαρτάνης με αμλοδιπίνη

Συνδυασμός VH = συνδυασμός βαλσαρτάνης με υδροχλωροθειαζίδη

ΧΝΝ = χρόνια νεφρική νόσος

Αρκτικόλεξα μελετών

ACCOMPLISH = Avoiding Cardiovascular Events through Combination Therapy in Patients Living with Systolic Hypertension trial

ADVANCE = Action in Diabetes and Vascular Disease: Preterax and Diamicron MR Controlled Evaluation

ALLHAT = Antihypertensive and Lipid-Lowering Treatment to Prevent Heart Attack trial

ALTITUDE = Aliskiren Trial in Type 2 Diabetes Using Cardiovascular and Renal Disease Endpoints

ANBP-2 = Second Australian National Blood Pressure Study

ARIC = Atherosclerosis Risk in Communities

ASCOT-BPLA = Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial – Blood Pressure Lowering Arm

CAMELOT = Comparison of Amlodipine versus Enalapril to Limit Occurrences of Thrombosis

CARE = Cholesterol and Recurrent Events

CASE-J = Candesartan Antihypertensive Survival Evaluation in Japan

ELSA = European Lacidipine Study on Atherosclerosis

EPIC = European Prospective Investigation of Cancer

EUROPA = European Trial on Reduction of Cardiac Events with Perindopril in Stable Coronary Artery Disease

FACET = Fosinopril Versus Amlodipine Cardiovascular Events Randomized Trial

FEVER = Felodipine Event Reduction

HOPE = Heart Outcomes Prevention Evaluation study

HYVET = Hypertension in the Very Elderly Trial

JMIC-B = Japan Multicenter Investigation for Cardiovascular Diseases-B

LIFE = Losartan Intervention For Endpoint

MARVAL = MicroAlbuminuria Reduction With VALsartan

MONICA = MONitoring of trends and determinants In Cardiovascular Disease

MRFIT = Multiple Risk Factor Intervention Trial

NAVIGATOR = Nateglinide and Valsartan in Impaired Glucose Tolerance Outcomes Research

ONTARGET = Ongoing Telmisartan Alone and in Combination with Ramipril Global Endpoint Trial

Pilot HYVET = pilot study for the Hypertension in the Very Elderly Trial

PREVENT = Prospective Randomized Evaluation of the Vascular Effects of Norvasc Trial

Syst-Eur = Systolic Hypertension in Europe trial

TRANSCEND = Telmisartan Randomized Assessment Study in ACE-I Intolerant Subjects with Cardiovascular Disease

VA = Veterans Administration

VAL-HeFT = Valsartan Heart Failure Trial

VALIANT = Valsartan in Acute Myocardial Infarction

VALUE = Valsartan Antihypertensive Long-term Use Evaluation trial

VART = Valsartan Amlodipine Randomized Trial

WOSCOPS = West of Scotland Coronary Prevention Study

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1. Στάδια αρτηριακής υπέρτασης

Πίνακας 2. Παράμετροι φαρμακοκινητικής θειαζιδικών διουρητικών

Πίνακας 3. Κατηγοριοποίηση Ανταγωνιστών Διαύλων Ασβεστίου

Πίνακας 4. Δράσεις της ATII μέσω σύνδεσης με υποδοχείς AT1 και AT2

Πίνακας 5. Φαρμακολογικά χαρακτηριστικά των AMEA που κυκλοφορούν στην Ελλάδα

Πίνακας 6. Κύρια χαρακτηριστικά των μελετών που χρησιμοποιήθηκαν στη μεταανάλυση του 2012 για την εκτίμηση της επίδρασης των AMEA στην ολική θνητότητα.

Πίνακας 7. Φαρμακοκινητικές ιδιότητες των ARBs

Πίνακας 8. Δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού της μελέτης

Πίνακας 9. Μεταβολές των επιπέδων της ΑΠ

Πίνακας 10. Μεταβολές στην ομοιοστασία του UA

Πίνακας 11. Επίδραση στη νεφρική λειτουργία, στην πρωτεϊνουρία και στις κλασματικές απεκκρίσεις ηλεκτρολυτών

Πίνακας 12. Μεταβολές στο μεταβολισμό των υδατανθράκων

Πίνακας 13. Μεταβολές στις λιπιδαιμικές παραμέτρους

Πίνακας 14. Μεταβολές στα υποκλάσματα των LDL

Πίνακας 15. Μεταβολές στα υποκλάσματα της HDL

Πίνακας 16. Μεταβολές στην ενεργότητα της LpPLA2 του πλάσματος

Πίνακας 17. Μεταβολές στα επίπεδα της hsCRP

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1. Επίπεδα ΔΑΠ στο γενικό πληθυσμό

Εικόνα 2. Παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί ΑΥ

Εικόνα 3. Επίδραση της κατανάλωσης αλκοόλ στην ΑΠ

Εικόνα 4. Χημική δομή χλωροθειαζίδης

Εικόνα 5. Χημική δομή νιφεδιπίνης

Εικόνα 6. Μηχανισμός δράσης φαρμάκων που παρεμβαίνουν στο RAAS

Εικόνα 7. Επίδραση των ΑΜΕΑ στην ολική θνητότητα

Εικόνα 8. Χημική δομή ΗCTZ

Εικόνα 9. Χημική δομή αμλοδιπίνης

Εικόνα 10. Σχηματισμός των μικρών πυκνών LDL σωματιδίων

Εικόνα 11. Πρόσφατες οδηγίες για την χρησιμοποίηση των επιπέδων της LpPLA2 στην εκτίμηση του κινδύνου εμφάνισης ΚΝ

Εικόνα 12. Σχηματική περιγραφή του πληθυσμού της μελέτης

ΕΙΣΑΓΩΓΗ - ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. ΑΡΤΗΡΙΑΚΗ ΥΠΕΡΤΑΣΗ

1.1 Ιστορία της υπέρτασης

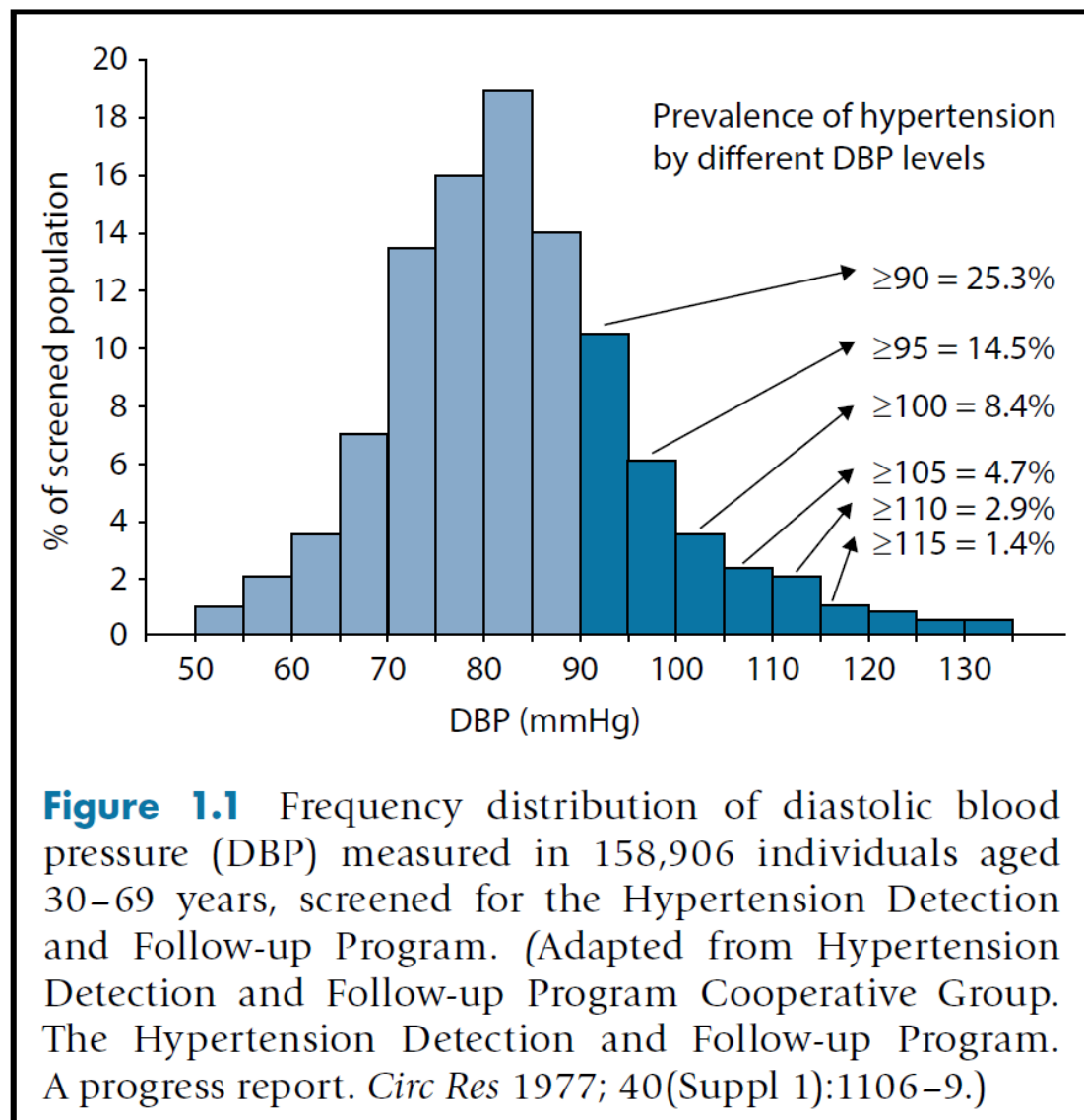
Η πρώτη ιστορικά τεκμηριωμένη αναφορά μέτρησης αρτηριακής πίεσης χρονολογείται το 1733, όταν ο αιδεσιμότατος Stephen Hales προέβη σε άμεση ενδαρτηριακή μέτρησή της σε άλογο(1). Κατά τη διάρκεια του 19^{ου} αιώνα η ανακάλυψη του σφυγμομανόμετρου από το Vierordt (1854) και του σφυγμομανόμετρου με περιχειρίδα από το Riva-Rocci (1896) άνοιξαν το δρόμο για την ευρεία μέτρηση της αρτηριακής πίεσης(1). Χρειάστηκε όμως να περάσουν αρκετές δεκαετίες για να καμφθεί πλήρως η αρχική διστακτικότητα της ιατρικής κοινότητας και να κυκλοφορήσουν οι πρώτες κατευθυντήριες οδηγίες για την αντιμετώπιση της αρτηριακής πίεσης μόλις το 1977 από τη Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation,, and Treatment of High Blood Pressure (JNC)(2).

1.2 Επιδημιολογικά δεδομένα

Η αρτηριακή υπέρταση είναι η συχνότερη αιτία προσέλευσης σε τακτικά ιατρεία καθώς και συνταγογράφησης στις ΗΠΑ, όπου υπολογίζεται ότι το 29-31% του ενήλικου πληθυσμού εμφανίζει αυξημένα επίπεδα αρτηριακής πίεσης, ποσοστό που σε παγκόσμιο επίπεδο υπολογίζεται ότι αγγίζει το 40%(3, 4). Παρόλα αυτά λιγότερο από το 50% των υπερτασικών ασθενών έχει επίγνωση της παρουσίας αυτού του παράγοντα κινδύνου, αλλά το ποσοστό αυτό αυξάνει στις δυτικές χώρες, λόγω της ευαισθητοποίησης και ενημέρωσης του γενικού πληθυσμού, ενώ παρά τα διαθέσιμα αντιυπερτασικά φάρμακα η αρτηριακή πίεση ρυθμίζεται σε ποσοστό 25% στις ανεπτυγμένες χώρες και 10% στις αναπτυσσόμενες(5).

Τα επίπεδα της ΑΠ στο γενικό πληθυσμό εμφανίζουν κανονική κατανομή. Στην Εικ.1 διακρίνεται αυτό το πρότυπο στην περίπτωση της διαστολικής ΑΠ όπως αυτή μετρήθηκε σε 158.906 άτομα(6).

Εικ.1 Επίπεδα ΔΑΠ στο γενικό πληθυσμό



Κλασικά η ΑΥ διαχωρίζεται στην ιδιοπαθή και στη δευτεροπαθή ΑΥ, οι οποίες αφορούν στο 95% και 5% των υπερτασικών ασθενών αντίστοιχα(7). Η παρουσία αναγνωρίσιμων αιτιολογικών παραγόντων (π.χ. νεφραγγειακή νόσος, νεφρική

ανεπάρκεια, υπεραλδοστερονισμός, φαιοχρωμοκύττωμα, υπνική άπνοια) χαρακτηρίζει τις περιπτώσεις των ασθενών με δευτεροπαθή ΑΥ, ενώ οι ασθενείς με ιδιοπαθή ΑΥ χαρακτηρίζονται από την απουσία τέτοιων παραγόντων(7, 8).

Μέσα από μεγάλες επιδημιολογικές μελέτες έχει αποδειχθεί ότι η αρτηριακή υπέρταση αποτελεί παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση στεφανιαίας νόσου, καρδιακής ανεπάρκειας, περιφερικής αρτηριοπάθειας, νεφρικής ανεπάρκειας και κοιλιακής μαρμαρυγής τόσο στους άντρες όσο και στις γυναίκες(9-13). Έχει παρατηρηθεί ότι τα επίπεδα της συστολικής αρτηριακής πίεσης αυξάνουν με την ηλικία, ενώ της διαστολικής σταθεροποιούνται ή και μειώνονται μετά την τέταρτη δεκαετία της ζωής(14).

1.3 Περιβαλλοντικοί παράγοντες που επηρεάζουν την αρτηριακή πίεση

Τα επίπεδα της αρτηριακής πίεσης είναι υψηλότερα όσο αυξάνεται το σωματικό βάρος και μειώνεται η σωματική δραστηριότητα, ενώ έχει παρατηρηθεί μία εποχική διακύμανσή τους με αύξησή τους κατά τους χειμερινούς μήνες(15-17). Η επίπτωση της ΑΥ είναι μεγαλύτερη σε άτομα με χαμηλό κοινωνικοοικονομικό επίπεδο(18). Αναφορικά με τις διαιτητικές συνήθειες, η αυξημένη πρόσληψη αλατιού (ιδιαίτερα σε αφροαμερικάνους, μεσήλικες, ηλικιωμένους και διαβητικούς), η κατανάλωση κόκκινου κρέατος και αλκοόλ (περισσότερα από 2 ποτήρια/ ημέρα), καθώς και μία διατροφή πτωχή σε κάλιο και πολυακόρεστα λίπη και πλούσια σε άμυλο, κορεσμένα λίπη και χοληστερόλη, είναι παράγοντες που αυξάνουν τα επίπεδα της αρτηριακής πίεσης(19-21).

1.4 Γονίδια και αρτηριακή υπέρταση

Μελέτες όπως η Montreal Adoption Study και η Victorian Family Heart Study έδειξαν την ύπαρξη ενός ισχυρού γενετικού παράγοντα στη ρύθμιση της ΑΠ μεταξύ ατόμων στα οποία μπορεί να υποτεθεί ότι η επίδραση του περιβάλλοντος είναι παρόμοια(22, 23).

1.5 Αιμοδυναμική της υπέρτασης

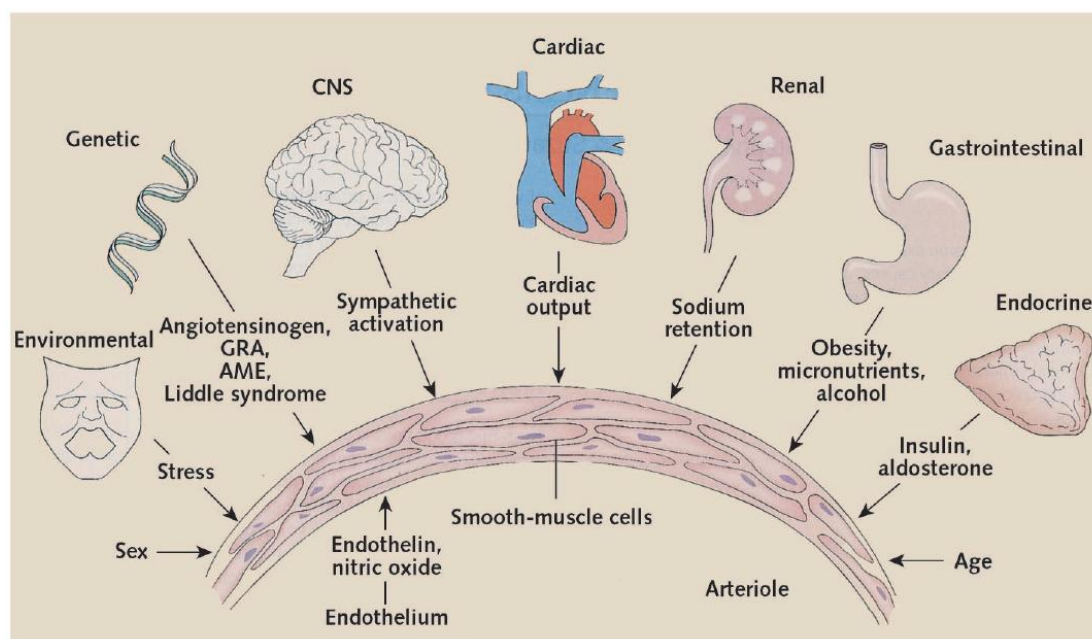
Υπάρχουν τρεις βασικοί παράγοντες που επηρεάζουν την αιμοδυναμική της κυκλοφορίας του αίματος στο αγγειακό δέντρο, η ενδοαγγειακή υδροστατική πίεση (αρτηριακή πίεση), ο όγκος και η ταχύτητα του αίματος που προωθείται από την καρδιά στην αορτή και το αρτηριακό δέντρο (καρδιακή παροχή) και οι αντιστάσεις στη ροή του αίματος στα αγγεία (περιφερικές αντιστάσεις)(24). Σε ήρεμη κατάσταση η αρτηριακή πίεση εμφανίζει μικρές διακυμάνσεις κυρίως εξαιτίας της αναπνευστικής λειτουργίας και αντανακλαστικών μηχανισμών. Μεγάλες διακυμάνσεις παρατηρούνται κατά την αλλαγή της στάσης του σώματος, τη φυσική δραστηριότητα, τις αλλαγές της θερμοκρασίας του περιβάλλοντος, το έντονο στρες, την αφύπνιση και τη χρήση νικοτίνης ή άλλων φαρμάκων(25, 26).

1.6 Παθογενετικοί μηχανισμοί ιδιοπαθούς ΑΥ

Ο ενδογενής μηχανισμός ρύθμισης της ΑΠ δεν έχει αποκαλυφθεί πλήρως. Από διάφορες μελέτες έχει φανεί ότι διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο το αυτόνομο νευρικό σύστημα, οι νεφροί και το σύστημα ρενίνης-αγγειοτενσίνης-αλδοστερόνης καθώς και διάφοροι αγγειακοί μηχανισμοί(27). Υπάρχουν, λοιπόν, πολλοί παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί που εμπλέκονται στην εμφάνιση της ιδιοπαθούς ΑΥ,

όπως η αυξημένη δραστηριότητα του αυτόνομου νευρικού συστήματος, η αυξημένη ή απρόσφορη έκκριση ρενίνης με επακόλουθη την αυξημένη παραγωγή αγγειοτενσίνης II και αλδοστερόνης, η μακροχρόνια αυξημένη διαιτητική πρόσληψη νατρίου και η μειωμένη πρόσληψη καλίου και ασβεστίου, η ανεπάρκεια αγγειοδιασταλτικών παραγόντων (όπως προστακυκλινών, μονοξειδίου του αζώτου και νατριουρητικών πεπτιδίων), μεταβολές στην έκφραση του συστήματος κινίνης-καλλικρεΐνης που επηρεάζουν τον αγγειακό τόνο και τη νεφρική ομοιοστασία του NaCl, οι αυξημένες αγγειακές αντιστάσεις, ο σακχαρώδης διαβήτης και η αντίσταση των ιστών στη δράση της ινσουλίνης, η παχυσαρκία, η αυξημένη δραστηριότητα αυξητικών αγγειακών παραγόντων, καθώς και μεταβολές στους αδρενεργικούς υποδοχείς που επηρεάζουν την καρδιακή συχνότητα, τις ινότροπες ιδιότητες της καρδιάς και τον αγγειακό τόνο(28) (Εικ. 2).

Εικ.2 Παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί ΑΥ



AME = apparent mineralocorticoid excess, CNS = central nervous system, GRA glucocorticoid-remediable aldosteronism

1.7 Καρδιαγγειακή νόσος

Η καρδιαγγειακή νόσος (KN) είναι η συχνότερη αιτία θανάτου στο Δυτικό κόσμο και η αθηροσκλήρωση αποτελεί την κυριότερη αιτία της(29). Υπάρχουν τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου εμφάνισης KN, όπως η αρτηριακή υπέρταση, η υπερλιπιδαιμία, το κάπνισμα, ο σακχαρώδης διαβήτης και μη τροποποιήσιμοι όπως η ηλικία, το φύλο και το οικογενειακό ιστορικό KN(30). Αυτοί οι παράγοντες κινδύνου αρκετά συχνά συνυπάρχουν και οδηγούν συνεργικά στην αύξηση του κινδύνου εμφάνισης KN και των επιπλοκών της (αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, οξύ έμφραγμα μυοκαρδίου, αιφνίδιος θάνατος)(31). Ειδικότερα, οι μελέτες Framingham Heart Study και Brisighella Heart Study έδειξαν ότι συνυπάρχουν δύο ή περισσότεροι παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση KN σε ποσοστό άνω του 80% των υπέρτασικών ασθενών(32, 33). Επιπρόσθετα, τα τελευταία χρόνια έχουν αναγνωριστεί και άλλοι ανεξάρτητοι παράγοντες κινδύνου εμφάνισης KN [όπως η παχυσαρκία και τα αυξημένα επίπεδα C αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP)] στην προσπάθεια να εξηγηθεί πλήρως ο συνολικός καρδιαγγειακός κίνδυνος.

1.8 Επιπλοκές ΑΥ

A) Βλάβη του μυοκαρδίου και καρδιακή ανεπάρκεια

Η ΑΥ είναι το συχνότερο αίτιο υπερτροφίας της αριστεράς κοιλίας και συμφορητικής καρδιακής ανεπάρκειας(34, 35). Η χρόνια παρουσία αυξημένης ΑΠ οδηγεί στην

αύξηση του πάχους των μυοκυττάρων και τελικά σε αύξηση του πάχους του καρδιακού τοιχώματος και υπερτροφία της αριστεράς κοιλίας(36).

Β) Αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο

Η ΑΥ είναι μείζων παράγοντας κινδύνου για εμφάνιση ισχαιμικού ή αιμορραγικού αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου (ΑΕΕ) τόσο στους άνδρες όσο και στις γυναίκες(37), καθώς και μικροαγγειοπάθειας του εγκεφάλου που προδιαθέτει στην εμφάνιση κενотоπιωδών εμφράκτων, βλαβών της λευκής ουσίας και εγκεφαλικών μικροαιμορραγιών(38-40), διαταραχές που είναι ως επί το πλείστον ασυμπτωματικές(37, 38, 41). Επίσης, η ΑΥ είναι ο σημαντικότερος προδιαθεσικός παράγοντας για την εμφάνιση μακροαγγειακών εγκεφαλικών επιπλοκών, όπως είναι το ΑΕΕ καθώς και η αγγειακή άνοια(9, 37, 38, 42). Υπάρχει μία γραμμική και συνεχής συσχέτιση ανάμεσα στα επίπεδα της ΑΠ και στον κίνδυνο εμφάνισης ΑΕΕ, η οποία φαίνεται ότι ξεκινά από επίπεδα ΣΑΠ 115 mmHg και ΔΑΠ 70 mmHg(43).

Γ) Βλάβες των μεγάλων αγγείων

Στους ασθενείς με ΑΥ οι μεγάλες αρτηρίες χάνουν σταδιακά την ελαστικότητά τους, ένα γεγονός που οφείλεται σε μεγάλο βαθμό στην εναπόθεση ανελαστικών ουσιών, όπως είναι το κολλαγόνο, στη διάσπαση δεσμών ελαστίνης, στην ίνωση, σε φλεγμονώδεις παράγοντες, καθώς και σε επασβεστώσεις. Στις ανελαστικές αρτηρίες αυξάνει η ταχύτητα διάδοσης τόσο των σφυγμικών κυμάτων που προκαλούνται από τη σύσπαση της αριστεράς κοιλίας, όσο και των κυμάτων ανάκλασης που δημιουργούνται μόλις τα σφυγμικά κύματα φτάσουν στα τελικά τμήματα του αρτηριακού δέντρου, ένας μηχανισμός που οδηγεί στην αύξηση της πίεσης παλμού (44-46). Η σημασία της μέτρησης της ανελαστικότητας των αρτηριών και των

κυμάτων αντανάκλασης βασίζεται σε πρόσφατα δεδομένα που δείχνουν ότι η ανελαστικότητα των αρτηριών είναι ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας για καρδιαγγειακά συμβάματα(47, 48).

Δ) Βλάβες μικρών αγγείων

Οι δομικές βλάβες των μικρών αγγείων σε υπερτασικούς ασθενείς αφορούν τη μείωση της διαμέτρου του αυλού τους και την υπερτροφία του τοιχώματός τους, διαταραχές που σταδιακά οδηγούν στην αύξηση των περιφερικών αγγειακών αντιστάσεων(49).

Ε) Βλάβη στο ενδοθήλιο των αγγείων

Η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου είναι μια κατάσταση που χαρακτηρίζεται από διαταραχή της ισορροπίας αγγειοδιασταλτικών, αντιμιτογόνων και αντιθρομβωτικών ουσιών, κυρίως του μονοξειδίου του αζώτου (NO) και σχετιζόμενων με το ενδοθήλιο παραγόντων που ευοδώνουν την αγγειοσύσπαση [endothelium-dependent contracting factors (EDCFs)](50). Σε ασθενείς με ΑΥ έχει τεκμηριωθεί η ύπαρξη δυσλειτουργίας του ενδοθηλίου τόσο στα στεφανιαία αγγεία(51, 52) όσο και στην περιφερική μικροκυκλοφορία (53, 54).

ΣΤ) Βλάβη στους νεφρούς

Η ΑΥ προκαλεί σκληρυντικές βλάβες των μικρών αρτηριών των νεφρών, μια κατάσταση γνωστή ως νεφροσκλήρυνση(27). Οι παθογενετικοί μηχανισμοί δεν έχουν διευκρινιστεί πλήρως, αλλά πιθανώς περιλαμβάνουν αθηρωσκληρωτικές βλάβες στις νεφρικές αρτηρίες, δυσλειτουργία του ενδοθηλίου(55), συνθήκες ενδονεφρικής ισχαιμίας (ιδίως στο μυελό)(56) και τοπική αύξηση των

ενδοσπειραματικών πιέσεων μέσω της ενεργοποίησης του συστήματος ρενίνης-αλδοστερόνης(57). Η υπερτασική νεφροσκλήρυνση εκδηλώνεται ως μείωση του ρυθμού της σπειραματικής διήθησης και αλβουμινουρία. Παρόλα αυτά υπάρχει διαφωνία στο κατά πόσο η ιδιοπαθής ΑΥ μπορεί να οδηγήσει από μόνη της σε τελικού σταδίου νεφρική ανεπάρκεια(58).

Ζ) Υπερτασική αμφιβληστροειδοπάθεια

Η υπερτασική αμφιβληστροειδοπάθεια χαρακτηρίζεται από μεταβολές των αγγείων του αμφιβληστροειδούς που διακρίνονται με τη βυθοσκόπηση και είναι αποτέλεσμα της χρόνιας επίδρασης των αυξημένων επιπέδων της ΑΠ(59). Το 2004 προτάθηκε από τους Wong και Mitchell η κατηγοριοποίηση της υπερτασικής αμφιβληστροειδοπάθειας σε τρία στάδια, την ήπια (γενικευμένες ή εστιακές στενώσεις των αρτηριολίων, θολεροποίηση του τοιχώματος των αρτηριολίων δίκην καλωδίου από χαλκό ή ασήμι), τη μέτρια (μικροανευρύσματα, αιμορραγίες, σκληρά εξιδρώματα) και την κακοήθη (σημεία μέτριας υπερτασικής αμφιβληστροειδοπάθειας σε συνδυασμό με οίδημα του οπτικού δίσκου)(60).

1.9 Στάδια αρτηριακής υπέρτασης

Σύμφωνα με τη σταδιοποίηση 2013 ESH-European Society of Cardiology (ESC),όπως φαίνεται στον Πίνακα 1, η ΑΠ διακρίνεται σε 3 στάδια(31). Όταν η ΣΑΠ και η ΔΑΠ ενός ασθενούς εμπίπτουν σε διαφορετικά στάδια τότε υπερισχύει το υψηλότερο εξ αυτών.

Πίνακας 1. Στάδια αρτηριακής υπέρτασης			
Στάδιο	ΣΑΠ		ΔΑΠ
Ιδανική	<120 mmHg	και	<80 mmHg
Φυσιολογική	120-129 mmHg	και/ή	80-84 mmHg
Υψηλή φυσιολογική	130-139 mmHg	και/ή	85-89 mmHg
Στάδιο 1 ΑΥ	140-159 mmHg	και/ή	90-99 mmHg
Στάδιο 2 ΑΥ	160-179 mmHg	και/ή	100-109 mmHg
Στάδιο 3 ΑΥ	>180 mmHg	και/ή	>110 mmHg
Μεμονωμένη συστολική υπέρταση	>140 mmHg	και	<90 mmHg

1.10 Τιμές στόχοι στην αντιμετώπιση της ΑΥ

Σύμφωνα με τις πρόσφατα τροποποιημένες οδηγίες της Joint National Committee (JNC 8) ως τιμές στόχοι για την αντιμετώπιση της ΑΥ προτείνονται τα επίπεδα ΑΠ<150/90 mmHg για το γενικό πληθυσμό άνω των 60 ετών και τα επίπεδα ΑΠ<140/90 mmHg για το γενικό πληθυσμό κάτω των 60 ετών, καθώς και για τα ενήλικα άτομα με χρόνια νεφρική νόσο ή σακχαρώδη διαβήτη (ΣΔ)(61).

1.11 Αντιμετώπιση ΑΥ

Για την αντιμετώπιση της ΑΥ μπορούν να χρησιμοποιηθούν μη φαρμακευτικά μέσα και φαρμακευτική αγωγή.

1.11.1 Μη φαρμακευτικές παρεμβάσεις - Υγιεινοδιαιτητική αγωγή

Υπάρχουν αρκετά μη φαρμακευτικά μέτρα τα οποία βοηθούν τόσο στην πρόληψη όσο και στη θεραπεία της ΑΥ(38, 62-65).

α) Μείωση σωματικού βάρους (ΣΒ)

Στα υπέρβαρα άτομα [με Δείκτη Μάζας Σώματος (Body Mass Index – BMI) $>25\text{kg/m}^2$] υπάρχει σταθερή αύξηση του κινδύνου εμφάνισης ΑΥ με την αύξηση του ΣΒ(66). Υπέρβαρα άτομα ηλικίας 20 ως 39 ετών εμφανίζουν διπλάσιο κίνδυνο για την εμφάνιση ΑΥ σε σύγκριση με φυσιολογικού βάρους άτομα της ίδιας ηλικίας(67). Ειδικότερα, η ΣΑΠ αυξάνει κατά 1 mmHg για κάθε αύξηση του BMI κατά $1,7\text{ kg/m}^2$ και της περιμέτρου μέσης κατά 4,5 cm στους άνδρες και στις γυναίκες κατά $1,3\text{ kg/m}^2$ και 2,5 cm αντίστοιχα(68). Επιπρόσθετα, η μείωση του ΣΒ φαίνεται ότι οδηγεί σε μείωση της ΑΠ σε πολλούς ασθενείς, καθώς επίσης και σε μείωση του αριθμού και της δοσολογίας των αντιυπερτασικών φαρμάκων και σε πρόληψη της εμφάνισης νεοδιαγνωσθείσας ΑΥ(69). Σύμφωνα με μία μεγάλη μεταανάλυση, η μείωση του ΣΒ κατά 5 kg οδηγεί σε μείωση της ΣΑΠ και ΔΑΠ κατά 4,4 mmHg και 3,6 mmHg αντίστοιχα(70).

β) Μείωση της διαιτητικής πρόσληψης νατρίου

Ήδη από τη δεκαετία του 1960 υπήρχαν οι πρώτες αναφορές σχετικά με τη δυσμενή επίδραση της κατανάλωσης νατρίου στα επίπεδα της ΑΠ(71). Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι η μείωση της ημερήσιας διαιτητικής πρόσληψης νατρίου από τα 150 mmol/ημέρα στα 100 mmol/ημέρα ή στα 50 mmol/ημέρα για μία διάρκεια 30 ημερών συνοδεύεται από μείωση της ΑΠ κατά 2,1/1,1 mmHg και 6,7/3,5 mmHg

αντίστοιχα και η επίδραση ήταν πιο ισχυρή σε άτομα της μαύρης φυλής καθώς και σε άτομα με ΑΥ(21). Η ευεργετική επίδραση της μείωσης της διαιτητικής πρόσληψης νατρίου στα επίπεδα της ΑΠ επιβεβαιώθηκε και από μία μεγάλη μεταανάλυση το 2013, η οποία έδειξε ότι η επίδραση αυτή συνοδεύεται και από μείωση του κινδύνου εμφάνισης ΑΕΕ και οξέων στεφανιαίων συνδρόμων(72). Έτσι, οι κατευθυντήριες οδηγίες των American College of Cardiology/American Heart Association περιλαμβάνουν τη μείωση της πρόσληψης νατρίου στα προτεινόμενα μέτρα μη φαρμακευτικής παρέμβασης για την πρόληψη και την αντιμετώπιση της ΑΥ(73).

γ) Αύξηση της διαιτητικής πρόσληψης καλίου

Ήδη από τη δεκαετία του 1980 άνοιξε η συζήτηση για την ευεργετική επίδραση της αύξησης της διαιτητικής πρόσληψης καλίου στα επίπεδα της ΑΠ (74). Περισσότερα δεδομένα προέκυψαν από μια μεγάλη πρόσφατη μεταανάλυση, η οποία έδειξε ότι η αύξηση της πρόσληψης καλίου έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της ΑΠ κατά 3,5/2,0 mmHg στους υπερτασικούς ασθενείς, αλλά όχι στα νορμοτασικά άτομα, ενώ η μείωση ήταν μεγαλύτερη στους ασθενείς με τη μεγαλύτερη πρόσληψη καλίου (90-120mmol/ημέρα)(75). Επιπρόσθετα, η πτώση της ΑΠ συνοδεύεται από μείωση του κινδύνου εμφάνισης ΑΕΕ, αλλά όχι οξέων στεφανιαίων συνδρόμων(75).

δ) Αύξηση της διαιτητικής πρόσληψης ασβεστίου και μαγνησίου

Επιδημιολογικά δεδομένα παρείχαν τις αρχικές ενδείξεις για την επίδραση της διαιτητικής πρόσληψης ασβεστίου και μαγνησίου στα επίπεδα της ΑΠ(76, 77). Παρόλα αυτά, μελέτες και μετααναλύσεις που ακολούθησαν απέτυχαν να

αποδείξουν την ευεργετική επίδραση της αυξημένης πρόσληψης ασβεστίου και μαγνησίου στη μείωση της ΑΠ(78, 79).

ε) Άλλες διατροφικές παρεμβάσεις

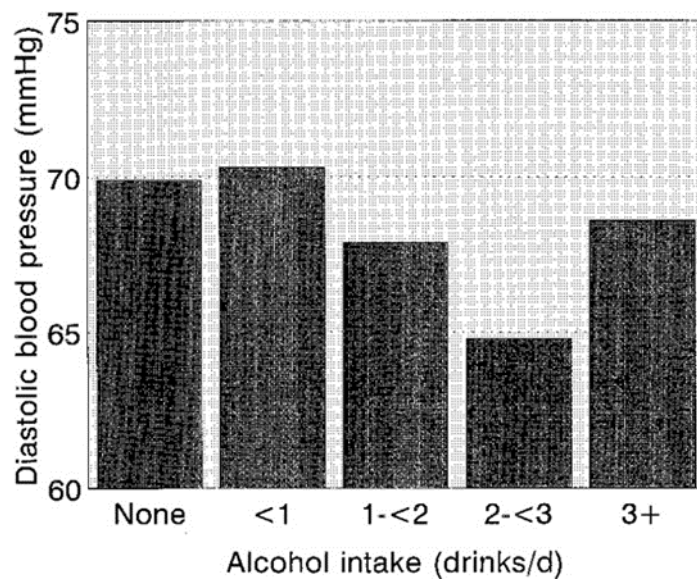
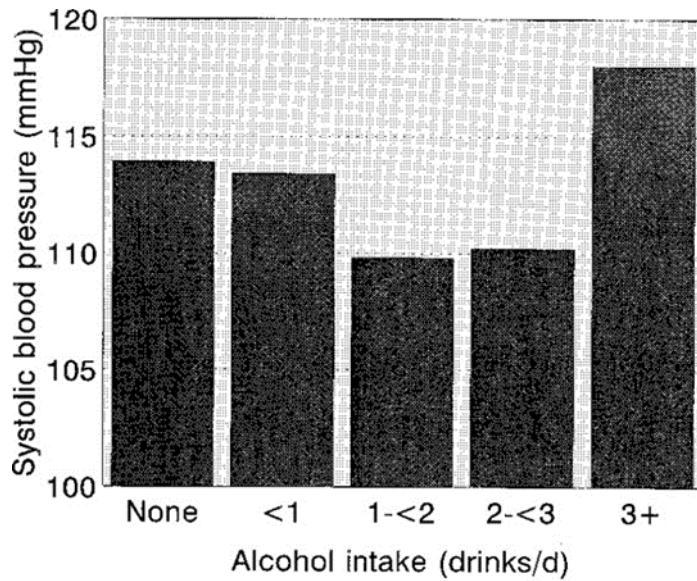
Σύμφωνα με μία πρόσφατη μεταανάλυση η αυξημένη πρόσληψη βιταμίνης C για βραχύ χρονικό διάστημα μειώνει την ΑΠ κατά 3,8/2,4 mmHg στο γενικό πληθυσμό και κατά 4,9/2,7 mmHg στους υπερτασικούς ασθενείς(80). Δεν υπάρχουν όμως δεδομένα που να επιβεβαιώνουν ότι αυτή η επίδραση διατηρείται σε περιπτώσεις μακροχρόνιας λήψης βιταμίνης C.

Η αυξημένη κατανάλωση προϊόντων κακάο και πλούσιων σε φλαβονόλες σοκολατών συνδέεται με μείωση της ΑΠ εξαιτίας αυξημένης παραγωγής NO στο ενδοθήλιο. Η επίδραση αυτή επιβεβαιώθηκε από μία μεταανάλυση που εκτίμησε τη μείωση της ΑΠ σε 2,8/2,2 mmHg μετά από κατανάλωση προϊόντων κακάο για βραχύ χρονικό διάστημα (2-8 εβδομάδες) (81).

Η χορτοφαγία, η μεσογειακή διατροφή καθώς και η δίαιτα DASH (Dietary Approaches to Stop Hypertension), που χαρακτηρίζεται από αυξημένη πρόσληψη υδατανθράκων, με έμφαση σε φρούτα και λαχανικά και κατανάλωση προϊόντων χαμηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά, οδηγούν σε μείωση των επιπέδων της ΑΠ(82-84).

Η αυξημένη κατανάλωση αλκοόλ οδηγεί σε αύξηση της ΑΠ(85). Φαίνεται όμως ότι η συσχέτιση της κατανάλωσης αλκοόλ με τα επίπεδα της ΑΠ ακολουθεί μία καμπύλη μορφής J (Εικ.3), με αποτέλεσμα η κατανάλωση δύο ποτών/ημέρα στους άντρες και ενός ποτού/ημέρα στις γυναίκες να οδηγεί σε μείωση της ΑΠ(86).

Εικ.3 Επίδραση της κατανάλωσης αλκοόλ στην ΑΠ



στ) Επίδραση του καπνίσματος στα επίπεδα της ΑΠ

Σύμφωνα με δεδομένα που έχουν προκύψει από μεγάλες επιδημιολογικές μελέτες, το μακροχρόνιο κάπνισμα συσχετίζεται με αύξηση της ΣΑΠ στους άνδρες, ενώ στις γυναίκες το μέτριο κάπνισμα (1-9 τσιγάρα/ημέρα) συσχετίζεται με μείωση της ΑΠ, ιδιαίτερα της ΔΑΠ, σε σύγκριση με τις μη καπνίστριες και τις γυναίκες που καπνίζουν >10 τσιγάρα/ημέρα. Η αδιαμφισβήτητη αύξηση του καρδιαγγειακού

κινδύνου ως συνέπεια του καπνίσματος καθιστά τη σύσταση για διακοπή του επιτακτική τόσο στα νορμοτασικά άτομα όσο και στους υπερτασικούς ασθενείς(87, 88).

ζ) Σωματική άσκηση

Η τακτική σωματική άσκηση με διάφορες μορφές (περπάτημα, τρέξιμο, κολύμβηση, ποδηλασία) οδηγεί σε μείωση της ΑΠ[89]. Συνεπώς, η εφαρμογή εξατομικευμένου προγράμματος σωματικής άσκησης είναι απαραίτητη στους υπερτασικούς ασθενείς τόσο για τη μείωση της ΑΠ όσο και του συνολικού καρδιαγγειακού κινδύνου.[90]

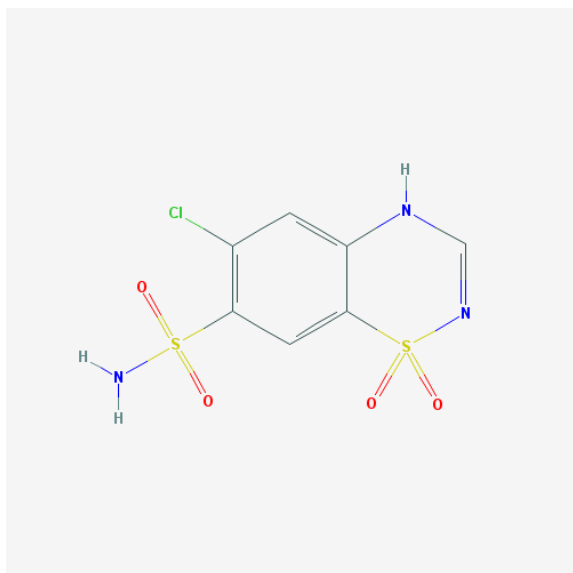
1.11.2 Φαρμακευτικές παρεμβάσεις για την αντιμετώπιση της ΑΥ

Σύμφωνα με τις τελευταίες αμερικάνικες κατευθυντήριες οδηγίες, η αρχική φαρμακευτική παρέμβαση στην ΑΥ περιλαμβάνει τρεις κατηγορίες φαρμάκων, τα θειαζιδικά διουρητικά, τους ανταγωνιστές των διαύλων ασβεστίου και τα φάρμακα που παρεμβαίνουν στον άξονα ρενίνης-αγγειοτενσίνης-αλδοστερόνης [αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης (ΑΜΕΑ) και ανταγωνιστές των υποδοχέων της αγγειοτενσίνης (ΑΥΑ)](61). Μόνο στην περίπτωση που η χρήση των παραπάνω φαρμάκων στις μέγιστες ανεκτές δόσεις δεν επαρκεί για τη ρύθμιση της ΑΠ προτείνεται η περαιτέρω χρήση παραγόντων που ανήκουν σε άλλες φαρμακευτικές κατηγορίες(61).

1.11.2.1 Θειαζιδικά διουρητικά

Τα θειαζιδικά διουρητικά ανακαλύφθηκαν τη δεκαετία του 1950 και η πρώτη εμπορική κυκλοφορία πραγματοποιήθηκε το 1958 με εκπρόσωπο τη νατριούχο χλωροθειαζίδη(Εικ.4)(89). Έκτοτε παραμένουν στην πρώτη γραμμή των χρησιμοποιούμενων αντιυπερτασικών φαρμάκων.

Η διουρητική δράση των θειαζιδικών διουρητικών επιτυγχάνεται μέσω αναστολής του συμμεταφορέα Na^+/Cl^- στο άπω εσπειραμένο σωληνάριο(90), με αποτέλεσμα τη μείωση της επαναρόφησης Na^+ από τα άπω σωληνάρια στο διάμεσο χώρο(91).



Εικ.4 Χημική δομή χλωροθειαζίδης

Η αναστολή αυτού του συμμεταφορέα από τα θειαζιδικά διουρητικά οδηγεί αρχικά σε αύξηση του όγκου των ούρων και σε μείωση του εξωκυττάριου όγκου, με αποτέλεσμα τη μείωση της φλεβικής επαναφοράς, την αύξηση της έκκρισης ρενίνης, τη μείωση της καρδιακής παροχής και την πτώση της ΑΠ(92). Μετά από λίγες μέρες η μείωση της καρδιακής παροχής οδηγεί σε αύξηση των περιφερικών αντιστάσεων μέσω ενεργοποίησης του συμπαθητικού συστήματος και του άξονα

ρενίνης-αγγειοτενσίνης-αλδοστερόνης(93, 94). Έτσι, 4-6 βδομάδες μετά την έναρξη χορήγησης θειαζιδικού διουρητικού, ο όγκος του πλάσματος και του εξωκυττάριου υγρού αποκαθίσταται σχεδόν πλήρως στα πριν την αγωγή επίπεδα, αλλά παρόλα αυτά διατηρείται η μείωση της ΑΠ(93, 95). Φαίνεται λοιπόν ότι η αντιυπερτασική δράση των θειαζιδικών διουρητικών ασκείται μέσω της μείωσης των περιφερικών αντιστάσεων με άμεσους και έμμεσους αγγειοδιασταλτικούς μηχανισμούς(92, 93).

Τα θειαζιδικά διουρητικά έχουν συσχετισθεί με την εμφάνιση υπερλιπιδαιμίας, υπεργλυκαιμίας, νεοεμφανιζόμενου ΣΔ, υπονατρίαμίας, υποκαλιαμίας, υπερούριχαιμίας και την ενεργοποίηση του άξονα ρενίνης – αγγειοτενσίνης - αλδοστερόνης(96-99).

Τα θειαζιδικά διουρητικά προκαλούν αύξηση των επιπέδων της χοληστερόλης των χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών (Low Density Lipoprotein – LDL) και των τριγλυκεριδίων (triglycerides – TRG) (100).

Αν και πολλές μελέτες έχουν επιβεβαιώσει την αύξηση των επιπέδων της γλυκόζης του αίματος σε ασθενείς που λαμβάνουν θειαζιδικά διουρητικά, δεν υπάρχουν επαρκή δεδομένα για το εάν αυτή η αύξηση συσχετίζεται με αύξηση του κινδύνου εμφάνισης ΣΔ(97, 98, 101). Μια πρόσφατη μεταανάλυση έδειξε ότι τα θειαζιδικά διουρητικά και οι β αδρενεργικοί αναστολείς συσχετίζονται με υψηλότερο κίνδυνο εμφάνισης ΣΔ σε σύγκριση με τα φάρμακα που παρεμβαίνουν στο άξονα ΡΑΑ, τους CCBs και το εικονικό φάρμακο(99). Ο ακριβής μηχανισμός δεν είναι γνωστός, πιστεύεται όμως ότι διαδραματίζει σημαντικό ρόλο η μείωση των επιπέδων του K^+ (μέσω πιθανής μείωσης της έκκρισης ινσουλίνης) και η ελάττωση της αιματικής ροής στους σκελετικούς μυς, η υπομαγνησισαιμία(102, 103), η υπερτριγλυκεριδαιμία

(104), η διέγερση του αυτόνομου νευρικού συστήματος και η ενεργοποίηση του RAAS (ως αποτέλεσμα της μείωσης της ΑΠ)(105).

Η προκαλούμενη από τη λήψη θειαζιδικών διουρητικών υπονατρίαμία παρατηρήθηκε ήδη από τα πρώτα χρόνια της χρησιμοποίησής τους(106) και σχετίζεται κυρίως με την ελάττωση της νεφρικής κάθαρσης ελεύθερου ύδατος (107, 108).

Η υποκαλιαιμία που προκαλείται από τη λήψη θειαζιδικών διουρητικών οφείλεται κυρίως στην αυξημένη προσφορά Na^+ στον άπω νεφρώνα και στην αυξημένη παραγωγή αλδοστερόνης, λόγω συστολής του εξωκυτταρίου χώρου υγρών, παράγοντες που διεγείρουν την επαναρρόφηση Na^+ και την ταυτόχρονη απέκκριση K^+ στα αθροιστικά σωληνάκια(109).

Οι μηχανισμοί που προκαλούν υπερουριχαιμία περιλαμβάνουν τη μειωμένη απέκκριση UA λόγω της συστολής του εξωκυτταρίου όγκου, της αναστολής της απέκκρισης UA από την πρωτεΐνη MRP-4 και την αυξημένη επαναρρόφηση UA από απευθείας επίδραση στο μεταφορέα οργανικών ανιόντων 4(110).

Εκτός από τις παραπάνω μεταβολικές παρενέργειες, τα θειαζιδικά διουρητικά εμφανίζουν και άλλες ανεπιθύμητες ενέργειες, όπως ορθοστατική υπόταση, φωτοευαισθησία, ανορεξία, δυσκοιλιότητα, διάρροια, ακοκκιοκυτταραιμία, αιμολυτική αναιμία, λευκοπενία, θρομβοπενία, γλυκοζουρία, διάμεση νεφρίτιδα, πνευμονικό οίδημα, αναφυλακτικές αντιδράσεις. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον έχουν νέα δεδομένα που υποστηρίζουν την πρόκληση νεφρικής βλάβης (εστιακή σπειραματική βλάβη) σε ποντίκια μετά από τη χορήγηση HCTZ(111, 112).

Βιοχημικές ιδιότητες θειαζιδικών διουρητικών

Η σύνθεση των θειαζιδικών διουρητικών βασίζεται στο 1,2,4-βενζοθειαζίνη-1,1-διοξείδιο(113). Με αυστηρά βιοχημικά κριτήρια στα θειαζιδικά διουρητικά περιλαμβάνονται η χλωροθειαζίδη, η HCTZ και η βενδροφλουμεθειαζίδη. Διουρητικά όπως η χλωροθαλιδόνη, η ινδαπαμίδη και η μετολοζόνη, αν και δεν κατατάσσονται στις βενζοθειαζίνες, εντούτοις θεωρούνται συναφή με τα θειαζιδικά και για αυτό το λόγο στην αντιμετώπιση της ΑΥ περιλαμβάνονται στην ευρύτερη κατηγορία των θειαζιδικών διουρητικών(114, 115). Στον Πίνακα 2 διακρίνονται οι παράμετροι φαρμακοκινητικής των θειαζιδικών διουρητικών. Τα φάρμακα παρουσιάζουν μεγάλη βιοδιαθεσιμότητα μετά από τη λήψη από του στόματος, με εξαίρεση τη χλωροθειαζίδη που εμφανίζει δοσοεξαρτώμενη βιοδιαθεσιμότητα, κυκλοφορούν στο αίμα συνδεδεμένες με πρωτεΐνες και αποβάλλονται κατά κύριο λόγο από τους νεφρούς χωρίς να μεταβολιστούν(113, 116, 117).

Πίνακας 2. Παράμετροι φαρμακοκινητικής θειαζιδικών διουρητικών		
Θειαζίδη	Βιοδιαθεσιμότητα (%)	Σύνδεση με πρωτεΐνες (%)
βενδροφλουμεθειαζίδη	90	95
χλωροθειαζίδη	15-30	70
υδροχλωροθειαζίδη	60-70	40
ινδαπαμίδη	>90	76
χλωροθαλιδόνη	65	75

1.11.2.2 Ανταγωνιστές διαύλων ασβεστίου (Calcium channel blockers – CCBs)

Οι κλασικοί CCBs ασκούν τη δράση τους αποκλείοντας τους τύπου L διαύλους ασβεστίου που υπάρχουν στους σκελετικούς μυς, το μυοκάρδιο και τις λείες μυϊκές ίνες. Η ενεργοποίηση αυτών των διαύλων οδηγεί σε σύσπαση των μυϊκών ινών και συνεπώς ο αποκλεισμός τους έχει ως αποτέλεσμα τη μυοχάλαση(118). Οι πιο σύγχρονοι CCBs (μανιδιπίνη) φαίνεται ότι αποκλείουν και τους τύπου T διαύλους ασβεστίου. Ο μηχανισμός αυτός έχει ιδιαίτερο ενδιαφέρον στο επίπεδο του νεφρικού σπειράματος, όπου οι τύπου L δίαυλοι ασβεστίου υπάρχουν μόνο στο προσαγωγό αρτηριόλιο, ενώ οι τύπου T ανευρίσκονται τόσο στο προσαγωγό όσο και στο απαγωγό αρτηριόλιο. Έτσι, οι κλασικοί CCBs προκαλούν διαστολή μόνο στο προσαγωγό αρτηριόλιο και με αυτό τον τρόπο αυξάνουν την ενδοσπειραματική πίεση, ενώ οι σύγχρονοι CCBs, όπως η μανιδιπίνη, προκαλούν αγγειοδιαστολή και στα δύο αρτηριόλια και έτσι δεν επηρεάζουν σημαντικά την ενδοσπειραματική πίεση(119).

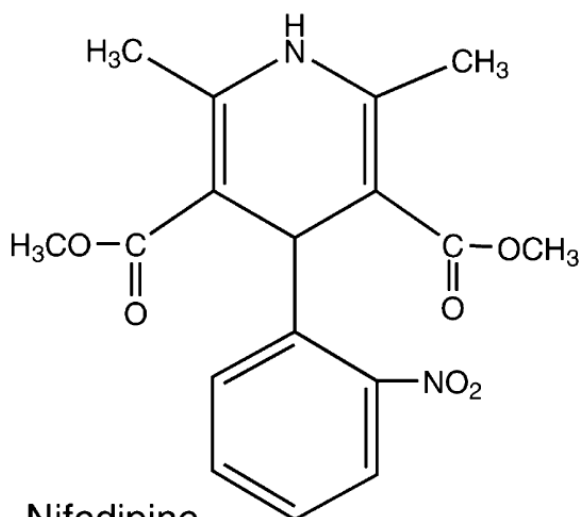
Οι CCBs χωρίζονται σε τρεις κατηγορίες, στις διυδροπυριδίνες, που ασκούν τη δράση τους κυρίως στα περιφερικά αγγεία προκαλώντας αγγειοδιαστολή, στις φαινυλαλκυλαμίνες που προκαλούν κατά βάση αρνητική ινότροπη και χρονότροπη δράση στο μυοκάρδιο και στις βενζοθειαζεπίνες που εμφανίζουν ενδιάμεση δράση από τις δύο πρώτες κατηγορίες (Πίνακας 3)(120). Οι διυδροπυριδίνες χρησιμοποιούνται στην αντιμετώπιση της ΑΥ και θα αναλυθούν στην παρούσα διατριβή.

Πίνακας 3. Κατηγοριοποίηση Ανταγωνιστών Διαύλων Ασβεστίου			
Κατηγορία	1 ^{ης} γενιάς	2 ^{ης} γενιάς	3 ^{ης} γενιάς
Διυδροπυριδίνες	Νιφεδιπίνη	Νιφεδιπίνη SR/GITS Φελοδιπίνη ER	Μανιδιπίνη Νισολδιπίνη Νιτρενδιπίνη Αμλοδιπίνη Φελοδιπίνη Λασιδιπίνη Βαρνιδιπίνη
Φαινυλαλκυλαμίνες	Βεραπαμίλη	Βεραπαμίλη SR	
Βενζοθειαζεπίνες	Διλτιαζέμη	Διλτιαζέμη SR	

SR, slow release; GITS, gastrointestinal-transport system; ER, extended release

Διυδροπυριδίνες (dihydropyridinic CCBs – DHCCBs)

Η χημική δομή των διυδροπυριδινιδών βασίζεται σε έναν κεντρικό δακτύλιο πυριδίνης(Εικ.5)(118).



Εικ.5 Χημική δομή νιφεδιπίνης.

Οι κατευθυντήριες οδηγίες για την αντιμετώπιση της ΑΥ κατατάσσουν τους DHCCBs στα φάρμακα πρώτης επιλογής στο γενικό πληθυσμό και ιδιαίτερα σε άτομα της μαύρης φυλής (61).

Οι πρώτες ενδείξεις για την ευεργετική επίδραση των DHCCBs στην ΑΥ και τον καρδιαγγειακό κίνδυνο προήλθαν το 1997 από τη μελέτη Syst-Eur, στην οποία η χορήγηση νιτρενδιπίνης σε ηλικιωμένους ασθενείς οδήγησε σε μείωση των θανατηφόρων και μη θανατηφόρων ΑΕΕ(121). Η μείωση του καρδιαγγειακού κινδύνου από τη χρήση DHCCBs σε υπερτασικούς ασθενείς επιβεβαιώθηκε από μεγάλες τυχαιοποιημένες μελέτες που ακολούθησαν τα επόμενα χρόνια, όπως η μελέτη Felodipine Event Reduction (FEVER)(122), η Antihypertensive and Lipid-Lowering Treatment to Prevent Heart Attack Trial (ALLHAT)(98), η Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial – Blood Pressure Lowering Arm (ASCOT-BPLA)(123), η Valsartan Antihypertensive Long-term Use Evaluation (VALUE) trial(124), η Avoiding Cardiovascular Events through Combination Therapy in Patients Living with Systolic Hypertension (ACCOMPLISH) trial(125).

Μεταξύ των ανεπιθύμητων παρενεργειών των DHCCBs συχνότερη είναι η εμφάνιση περιφερικού οιδήματος, συχνότερα στα κάτω άκρα, στο 5-20% των ασθενών. Το οίδημα είναι συχνότερο στις γυναίκες και σε παχύσαρκα άτομα, παρατηρείται κυρίως κατά τη διάρκεια της ημέρας, είναι δοσοεξαρτώμενο και δεν ανταποκρίνεται στη χορήγηση διουρητικών(126, 127). Ο μηχανισμός που οδηγεί σε αυτήν την παρενέργεια φαίνεται ότι είναι η τριχοειδική διαφυγή από την αγγειοδιαστολή των περιφερικών μικρών αρτηριολίων και ο μηχανισμός αυτός μπορεί να εξηγήσει τη μείωση του οιδήματος που παρατηρείται μετά τη χορήγηση φαρμάκων που παρεμβαίνουν στο RAAS, τα οποία προκαλούν αγγειοδιαστολή στο φλεβικό δίκτυο και μειώνουν την πίεση στα τριχοειδικά αγγεία των κάτω άκρων(127).

Οι κλασικοί DHCCBs, όπως η νιφεδιπίνη, ασκούν αρνητική ινότροπη δράση στο μυοκάρδιο και μπορεί να επιδεινώσουν την υποκείμενη καρδιακή ανεπάρκεια, σε αντίθεση με την προχωρημένη γενιά DHCCBs που εμφανίζουν ελάχιστη ή καθόλου αρνητική ινότροπη δράση και επομένως μπορούν να χρησιμοποιηθούν με σχετική ασφάλεια σε ασθενείς με ΚΑ(128, 129).

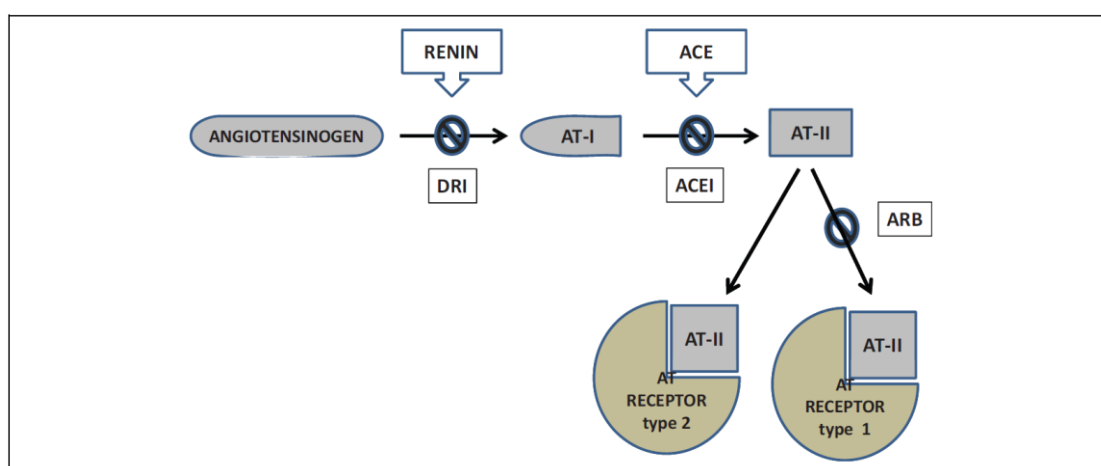
Οι ανεπιθύμητες ενέργειες των DHCCBs περιλαμβάνουν εξάψεις (πιο συχνά στις γυναίκες), αίσθημα παλμών, ναυτία, κεφαλαλγία, υπόταση, ενώ σπάνια έχουν αναφερθεί αλλεργικές αντιδράσεις και αγγειοοίδημα (130).

1.11.2.3 Φάρμακα που παρεμβαίνουν στον άξονα ρενίνης αγγειοτενσίνης αλδοστερόνης (RAAS)

Η ATII είναι η κύρια δραστική ορμόνη του άξονα RAAS και η παραγωγή της συντελείται σε δύο στάδια. Αρχικά, η εκκρινόμενη από την παρασπειραματική συσκευή του νεφρού ρενίνη προκαλεί τη μετατροπή του παραγόμενου από το ήπαρ αγγειοτενσινογόνου σε ATI. Εν συνεχεία με την παρέμβαση του ΜΕΑ συντελείται υδρόλυση της ATI και μετατροπή της σε ATII [130]. Η ATII ασκεί τη δράση συνδεόμενη με δύο υποδοχείς, τον AT1, ο οποίος είναι υπεύθυνος για τις περισσότερες από τις δράσεις της ATII, και τον AT2 (Πίνακας 4)[131].

Τα φάρμακα που παρεμβαίνουν στο RAAS διακρίνονται σε τρεις κατηγορίες, στους αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης (AMEA), στους ανταγωνιστές των υποδοχέων της αγγειοτενσίνης (Angiotensin Receptor Blockers – ARBs), και στους αναστολείς της ρενίνης. Στην Εικ.6 διακρίνεται το σημείο του RAAS στο οποίο γίνεται η παρέμβαση αυτών των φαρμάκων(131).

Πίνακας 4. Δράσεις της ATII μέσω σύνδεσης με υποδοχείς AT1 και AT2	
AT1	AT2
αγγειοσύσπαση	ανάπτυξη εμβρυικού ιστού
αύξηση περιφερικής νοραδρενεργικής δραστηριότητας	αναστολή της κυτταρικής ανάπτυξης και πολλαπλασιασμού
σωληναριακή επαναρρόφηση Na ⁺	αγγειοδιαστολή
τροποποίηση της δραστηριότητας του αυτόνομου νευρικού συστήματος	τροποποίηση του εξωκυττάριου υποστρώματος
αναστολή έκκρισης ρενίνης	νευρωνική αναγέννηση
καρδιακή υπερτροφία	κυτταρική διαφοροποίηση
σύσπαση του μυοκαρδίου	απόπτωση
έκκριση αλδοστερόνης	
πολλαπλασιασμός των αγγειακών λείων μυϊκών κυττάρων	
μείωση της αιματικής ροής στο νεφρό	
κεντρική ωσορρυθμισμό	
σχηματισμός εξωκυττάριου υποστρώματος	



Εικ.6 Μηχανισμός δράσης φαρμάκων που παρεμβαίνουν στο RAAS

[AT: αγγειοτενσίνη, ACE: angiotensin-converting enzyme (μετατρεπτικό ένζυμο της αγγειοτενσίνης) ACEI: angiotensin-converting enzyme inhibitors (αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης), DRI: Direct renin inhibitors (αναστολείς της ρενίνης)]

A) Αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης (ΑΜΕΑ)

Η ανακάλυψη των ΑΜΕΑ το 1965 βασίστηκε στην παρατήρηση ότι το δηλητήριο της βραζιλιάνικης οχιάς *Bothrops jararaca* εμφάνιζε υποτασικές ιδιότητες(132). Η υπεύθυνη δραστική ουσία ήταν η τεπρωτίδη, ο πρώτος ΑΜΕΑ, ο οποίος όμως δεν χρησιμοποιήθηκε κλινικά. Το 1975 ανακαλύφθηκε η καπτοπρίλη, ο πρώτος ΑΜΕΑ που έλαβε άδεια κυκλοφορίας από το FDA το 1981(133).

Οι ΑΜΕΑ αποκλείουν την παραγωγή της ΑΤII εμποδίζοντας την απομάκρυνση ενός διπεπτιδίου από το καρβοξυλικό άκρο της ΑΤI(134). Στον Πίνακα 5 διακρίνονται τα φαρμακολογικά χαρακτηριστικά των ΑΜΕΑ που κυκλοφορούν στην Ελλάδα(135-141).

Μεταξύ των ανεπιθύμητων ενεργειών περιλαμβάνονται η υπόταση, ο ξηρός βήχας, ο οποίος συχνά οδηγεί στη διακοπή του φαρμάκου, η υπερκαλιαιμία που οφείλεται σε μειωμένη παραγωγή αλδοστερόνης, η οξεία νεφρική ανεπάρκεια, οι εμβρυικές ανωμαλίες που έχουν οδηγήσει στην απαγόρευση χορήγησής τους κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, το αγγειοοίδημα και η δυσγευσία[134].

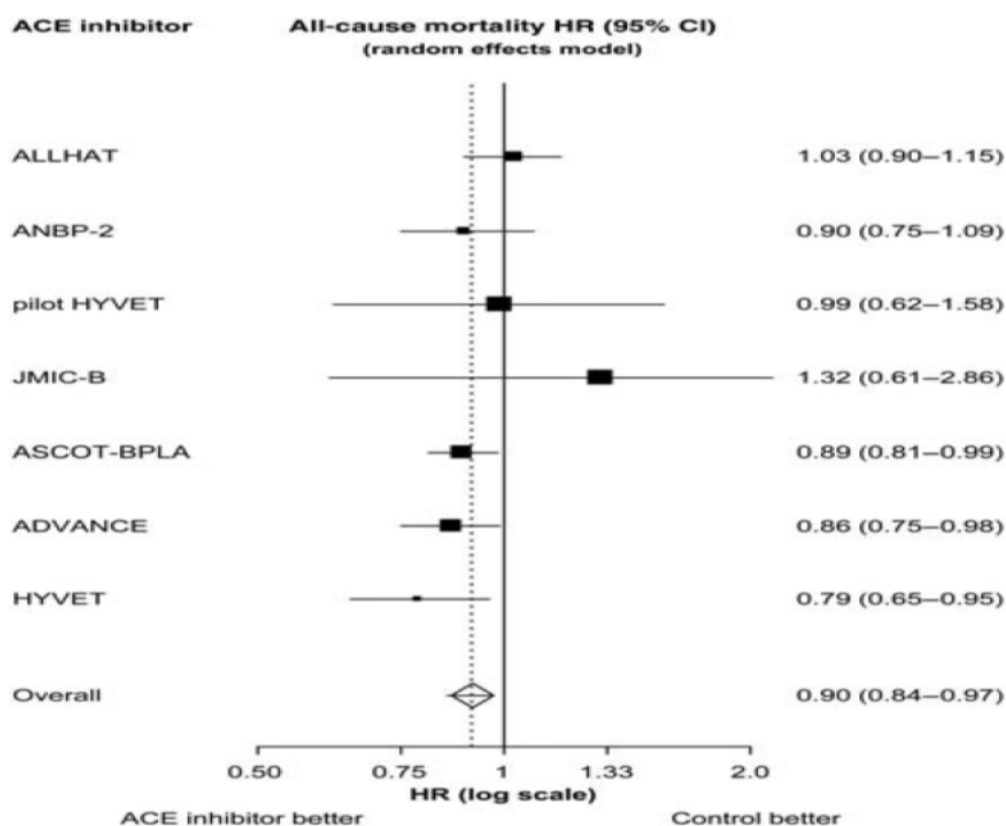
Μια μεταανάλυση(142) δεδομένων από μεγάλες τυχαιοποιημένες μελέτες, όπως η ALLHAT(98), η ANBP-2(143), η Pilot HYVET(144), η JMIC-B(145), η ASCOT- BPLA(123), η ADVANCE(146) και η HYVET(147), έδειξε ότι η αποτελεσματικότητα των ΑΜΕΑ στη μείωση της ΑΠ συνδυάζεται με παράλληλη μείωση της ολικής θνητότητας κατά 10% (Πίνακας 6 και Εικ.7).

Πίνακας 5. Φαρμακολογικά χαρακτηριστικά των ΑΜΕΑ που κυκλοφορούν στην Ελλάδα												
	Καπτο- πρίλη	Εναλα- πρίλη	Λισινο- πρίλη	Κινα- πρίλη	Ραμι- πρίλη	Ζοφενο- πρίλη	Περιν- δοτριλή	Σιλαζα- πρίλη	Ιμιδα- πρίλη	Φοσινο- πρίλη	Μπεναζε- πρίλη	Τραντο- λαπρίλη
Προφάρ- μακο	Όχι	Ναι	Όχι	Ναι	Ναι	Ναι	Ναι	Ναι	Ναι	Ναι	Ναι	Ναι
max ενερ- γό φάρμα- κο, h	0.7-0.9	2-8	6-8	2	3	0.4	5-8	1-4	3-6	2-6	2-4	4-10
t1/2 ενερ- γό φάρμα- κο, h	1.7	11	12	1.9-2.5, 25 terminal	Triphasic 4, 9-18, >50	5.5	40	40-50 terminal	7.6	12	10-11	10
Οδός μεταβολι- σμού	Νεφροί	Νεφροί	Νεφροί	Νεφροί	Νεφροί	Ήπαρ και νεφροί	Νεφροί	Νεφροί	Νεφροί	Ήπαρ και νεφροί	Ήπαρ (11%) και νεφροί	Νεφροί (33%) και κόπρανα (66%)
Δοσολογ- ικό εύρος, mg	6.25- 300	2.5-40	5-40	5-80	1.25-20	15-60	2-16	1-5	5-20	5-40	5-40	1-8
Βιοδιαθεσι- μότητα, %	75-91	60	6-60	>60	50-60	93	75	57-77	40	36	37	10

Πίνακας 6. Κύρια χαρακτηριστικά των μελετών που χρησιμοποιήθηκαν στη μεταανάλυση του 2012 για την εκτίμηση της επίδρασης των ΑΜΕΑ στην ολική θνητότητα.

Μελέτη	Έτος	n	ΑΜΕΑ	Ομάδα ελέγχου	Διάρκεια μελέτης (έτη)	Μέση ΣΑΠ mmHg	Μέση ηλικία (έτη)
ALLHAT	2002	33357	Λισινοπρίλη	Χλωροθαλιδόνη ή αμλοδιπίνη	5,01	146	66,9
ANBP-2	2003	6083	Εναλαπρίλη	Υδροχλωροθειαζίδη	4,06	168	71,9
Pilot HYVET	2003	1283	Λισινοπρίλη	Διουρητικό ή χωρίς αγωγή	1,12	182	83,8
JMIC-B	2004	1650	ΑΜΕΑ	Νιφεδιπίνη	2,25	146	64,5
ASCOT-BPLA	2005	19257	Αμλοδιπίνη +/- περινδοπρίλη	Ατενολόλη +/- υδροχλωροθειαζίδη	5,50	164	63,0
ADVANCE	2007	11140	Περινδοπρίλη με ινδαπαμίδη	Εικονικό φάρμακο	4,30	145	66,0
HYVET	2008	3845	Ινδαπαμίδη +/- περινδοπρίλη	Εικονικό φάρμακο	2,11	173	83,6

Εικ.7 Επίδραση των ΑΜΕΑ στην ολική θνητότητα.



Β) Ανταγωνιστές των υποδοχέων της αγγειοτενσίνης (ARBs)

Οι πρώτες χημικές ενώσεις που αποκλείουν τους υποδοχείς της AT₂ ανακαλύφθηκαν στις αρχές της δεκαετίας του 1980 και οδήγησαν στη σύνθεση του πρώτου ARB, της λοσαρτάνης, η οποία έλαβε άδεια κυκλοφορίας από το FDA το 1995(148).

Στον Πίνακα 7 διακρίνονται οι βασικές φαρμακοκινητικές ιδιότητες των ARBs(149-151).

Πίνακας 7. Φαρμακοκινητικές ιδιότητες των ARBs							
	T _{max} (h)	Βιοδι- αθε- σιμό- τητα (%)	Συσχέτιση με λήψη τροφής	Σύνδε- ση με πρωτεΐ- νες (%)*	Οδός αποβολής (%) και μεταβολισμός		
					Κόπρα- να	Ού- ρα	Μετα- βολι- σμός
Candesartan	2-5	15	Όχι	99,5	67	33	Μικρός
Eprosartan	1-3	13	↑C _{max} /AUC	98,0	90	10	Μικρός
Irbesartan	1,3-3	60-80	Όχι	90,0	80	20	9
Losartan	1-1,5	29-43	↓C _{max}	98,7	65	35	14
Telmisartan	0,5-1	30-60	Ελάχιστη	99,5	98	2	15
Valsartan	2-4	10-35	↓C _{max} /AUC	95,0	80	20	20
Olmesartan	1-2	26	Όχι	99,0	50-65	35- 55	Όχι
Azilsartan	1,5-3	58	Όχι	99,0	55	42	Ναι

* κυρίως με αλβουμίνη

Ο αποκλεισμός των υποδοχέων AT₁ από τους ARBs οδηγεί σε αντιρροπιστική αύξηση της ρενίνης πλάσματος, της AT_I και της AT_{II}, καθώς και σε μείωση των επιπέδων της αλδοστερόνης(150).

Όπως και οι AMEA, οι ARBs μπορεί να προκαλέσουν υπόταση, υπερκαλιαιμία, οξεία νεφρική ανεπάρκεια, εμβρυικές διαταραχές όταν χορηγηθούν κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης και σπανιότερα αγγειοοίδημα. Η εμφάνιση ξηρού βήχα κατά τη

χορήγηση ARBs είναι σπανιότερη σε σύγκριση με τους AMEA(152). Η χορήγηση των AMEA, σε αντίθεση με τη χορήγηση των ARBs, αυξάνει τα επίπεδα της βραδυκινίνης, της ουσίας P και των προσταγλανδινών με αποτέλεσμα τον ερεθισμό των βρόγχων, το βρογχόσπασμο και την πρόκληση ξηρού βήχα(153-155).

Η μελέτη Losartan Intervention For Endpoint (LIFE) έδειξε ότι σε σύγκριση με την ατενολόλη η λοσαρτάνη μειώνει τον κίνδυνο εμφάνισης AEE κατά 25% και καρδιαγγειακού θανάτου κατά 11% σε ασθενείς με υπέρταση και ανεπάρκεια της αριστεράς κοιλίας(156).

Στη μελέτη Valsartan Antihypertensive Long-term Use Evaluation (VALUE) η χορήγηση βαλσαρτάνης σε υπερτασικούς ασθενείς με επιπλέον παράγοντες κινδύνου για ΚΝ μείωσε τον κίνδυνο εμφάνισης ΣΔ κατά 23% σε σύγκριση με την αμλοδιπίνη(124).

Η μελέτη Ongoing Telmisartan Alone and in Combination with Ramipril Global Endpoint Trial (ONTARGET) στρατολόγησε 25620 υπερτασικούς ασθενείς με ΣΝ, περιφερική αγγειοπάθεια, AEE ή ΣΔ με βλάβη οργάνου στόχου, στους οποίους χορηγήθηκε τελμισαρτάνη ή ραμιπρίλη ή συνδυασμός τους. Η τελμισαρτάνη και η ραμιπρίλη δεν εμφάνισαν διαφορές όσον αφορά την επίδρασή τους στον καρδιαγγειακό θάνατο, το OEM, το AEE και τη νοσηλεία λόγω ΚΑ, ενώ ο συνδυασμός τους δεν φάνηκε να υπερέχει ενώ επιπρόσθετα η χορήγησή του συνοδευόταν από συχνότερη εμφάνιση ανεπιθύμητων ενεργειών(152).

Στη μελέτη Telmisartan Randomized Assessment Study in ACE-I Intolerant Subjects with Cardiovascular Disease (TRANSCEND) η χορήγηση τελμισαρτάνης μείωσε τον κίνδυνο OEM κατά 21% και AEE κατά 17% σε ασθενείς με καρδιαγγειακή νόσο ή ΣΔ

με βλάβη τελικού οργάνου στόχου οι οποίοι εμφανίζουν δυσανεξία στη λήψη AMEA(157).

Γ) Αναστολείς της ρενίνης

Ο πρώτος αναστολέας της ρενίνης που έλαβε άδεια κυκλοφορίας από το FDA το 2007 είναι η αλισκιρένη, η οποία αναστέλλοντας τη δράση της ρενίνης εμποδίζει την ενεργοποίηση του αγγειοτενσινογόνου(158, 159). Η αλισκιρένη εμφανίζει χαμηλή αλλά σταθερή βιοδιαθεσιμότητα (απορροφάται μόνο το 3% της χορηγούμενης δόσης), μεγάλο χρόνο ημίσειας ζωής (44 ώρες), μεταβολίζεται ελάχιστα και απεκκρίνεται σε ποσοστό 90% στα κόπρανα(158). Μεταξύ των συχνότερων ανεπιθύμητων ενεργειών της αλισκιρένης περιλαμβάνονται η εμφάνιση διάρροιας, βήχα, περιφερικού οιδήματος, αδυναμίας, υπότασης και εξανθήματος. Αξίζει να σημειωθεί ότι η χρήση της αλισκιρένης σε συνδυασμό με AMEA ή ARBs σε διαβητικούς ασθενείς δεν συνιστάται αφού αυξάνεται ο κίνδυνος εμφάνισης υπερκαλιαμίας, έκπτωσης της νεφρικής λειτουργίας και υπότασης, σύμφωνα με τα δεδομένα της μελέτης ALTITUDE (160).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. ΥΔΡΟΧΛΩΡΟΘΕΙΑΖΙΔΗ (HCTZ)

2.1 Γενικά

Το 2008 στις ΗΠΑ συνταγογραφήθηκαν 47,8 εκατομμύρια και 87,1 εκατομμύρια συνταγές της HCTZ είτε μόνη της είτε σε σταθερούς συνδυασμούς αντίστοιχα, καθιστώντας την την πιο συχνά συνταγογραφούμενη αντιυπερτασική φαρμακευτική ουσία(161). Παρά τα επαρκή δεδομένα για την αποτελεσματική μείωση της ΑΠ μετά τη χορήγηση HCTZ, τα τελευταία χρόνια έχει ανακύψει μία διένεξη στην επιστημονική κοινότητα για την ικανότητα της HCTZ και των άλλων θειαζιδικών διουρητικών να μειώνουν τον κίνδυνο εμφάνισης των καρδιαγγειακών επιπλοκών της ΑΥ(162).

2.2 Η HCTZ στις κλινικές μελέτες

2.2.1 HCTZ έναντι εικονικού φαρμάκου

Μία πρώιμη μελέτη που αποτέλεσε το έναυσμα για την ευαισθητοποίηση τόσο της ιατρικής κοινότητας όσο και των ασθενών απέναντι στην ΑΥ ήταν η Veterans Administration (VA) Cooperative trials, η οποία συνέκρινε την επίδραση υψηλών δόσεων HCTZ (100mg) σε συνδυασμό με ρεσερπίνη ή υδραλαζίνη με τη χορήγηση εικονικού φαρμάκου σε ασθενείς με αυξημένη ΔΑΠ. Πράγματι η χορήγηση αντιυπερτασικής αγωγής συνοδεύτηκε από μία μείωση των καρδιαγγειακών συμβαμάτων και η μείωση του σχετικού κινδύνου ήταν μεγαλύτερη όσο αυξημένη ήταν η αρχική ΔΑΠ. Ειδικότερα για τους ασθενείς με αρχική ΔΑΠ 90-104mmHg το όφελος της αγωγής με HCTZ ήταν ελάχιστο. Φάνηκε λοιπόν ότι η HCTZ μειώνει τον καρδιαγγειακό κίνδυνο σε ασθενείς με πολύ υψηλή ΔΑΠ, αλλά το όφελος αυτό

μπορεί να αποδοθεί αποκλειστικά στη μεγάλη μείωση της ΑΠ και όχι σε ενδεχόμενες πλειοτροπικές δράσεις της(163, 164).

Η μελέτη Oslo Hypertension Study ξεκίνησε το 1972 και στρατολόγησε 785 άνδρες ηλικίας 40-49 ετών με ήπια ΑΥ οι οποίοι τυχαιοποιήθηκαν σε δύο ομάδες, την ομάδα που έλαβε φαρμακευτική αντιυπερτασική αγωγή και την ομάδα ελέγχου. Από τους ασθενείς της πρώτης ομάδας, το 36% έλαβε μονοθεραπεία με HCTZ, το 26% έλαβε HCTZ με προπρανολόλη, το 20% έλαβε HCTZ με μεθυλντόπα και το υπόλοιπο 18% έλαβε άλλα φάρμακα. Συνολικά το 95% των ασθενών αυτών ελάμβανε HCTZ μόνη της ή σε συνδυασμό με άλλα φάρμακα. Μετά από 10 χρόνια η καρδιαγγειακή θνησιμότητα στους ασθενείς που ελάμβαναν HCTZ ήταν 14% σε αντίθεση με την ομάδα ελέγχου όπου το αντίστοιχο ποσοστό ήταν 3% ($p < 0,01$). Συμπερασματικά, η χορήγηση HCTZ, παρά τη μείωση της ΑΠ, οδήγησε σε αύξηση κατά 5 φορές της καρδιαγγειακής θνησιμότητας σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου(163, 165).

2.2.2. HCTZ έναντι χλωροθαλιδόνης

Στη μελέτη Multiple Risk Factor Intervention Trial (MRFIT) εντάχθηκαν 12866 ενήλικες άντρες υψηλού καρδιαγγειακού κινδύνου και χωρίστηκαν σε δύο ομάδες, στην ομάδα εξειδικευμένης παρέμβασης (ΕΠ), που περιλάμβανε διαιτητικές οδηγίες για μείωση της χοληστερόλης, υποστηρικτικές συνεδρίες για τη διακοπή του καπνίσματος και συστηματική παρακολούθηση και αντιμετώπιση της ΑΥ και στην ομάδα της συνήθους παρέμβασης (ΣΠ) από τις υπάρχουσες δομές υγείας της κοινότητας. Από τους ασθενείς που εντάχθηκαν στη μελέτη, 8012 ήταν υπερτασικοί κατά την ένταξή τους και έλαβαν είτε HCTZ είτε χλωροθαλιδόνη με μέγιστη δόση τα

100mg, η οποία στην πορεία περιορίστηκε στα 50mg. Μετά από 6 χρόνια, η χορήγηση HCTZ οδήγησε σε αύξηση της ολικής θνησιμότητας κατά 16% και του κινδύνου εμφάνισης καρδιαγγειακών συμβαμάτων κατά 44% σε σύγκριση με τους ασθενείς της ομάδας ΣΠ, ενώ η χορήγηση χλωροθαλιδόνης μείωσε τα αντίστοιχα ποσοστά κατά 41% και 58% αντίστοιχα. Περαιτέρω, η αλλαγή της αγωγής από HCTZ σε χλωροθαλιδόνη συνοδεύθηκε από μείωση της καρδιαγγειακής θνησιμότητας κατά 28% σε σύγκριση με τους ασθενείς της ομάδας ΣΠ (42, 161, 163, 166).

2.2.3. HCTZ έναντι αμλοδιπίνης

Η μελέτη ACCOMPLISH (Avoiding Cardiovascular events through Combination therapy in Patients Living with systolic Hypertension), είναι μία μεγάλη διπλή τυφλή μελέτη η οποία τυχαιοποίησε 11506 υπερτασικούς ενήλικες με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών συμβαμάτων σε συνδυασμό βεναζεπρίλης με αμλοδιπίνη, ή σε συνδυασμό βεναζεπρίλης με HCTZ. Το σύνθετο πρωτογενές καταληκτικό σημείο περιλαμβάνει θάνατο από καρδιαγγειακά αίτια, μη θανατηφόρο έμφραγμα του μυοκαρδίου, μη θανατηφόρο ΑΕΕ, νοσηλεία λόγω στηθάγχης, καρδιοπνευμονική αναζωογόνηση μετά από καρδιακή ανακοπή και επέμβαση στεφανιαίας επαναγγείωσης. Μετά από παρακολούθηση 36 μηνών η μελέτη διακόπηκε πρόωρα αφού η χορήγηση του συνδυασμού βεναζεπρίλης με αμλοδιπίνη συνοδεύθηκε από μείωση του σχετικού κινδύνου εμφάνισης των καρδιαγγειακών συμβαμάτων που περιλαμβάνονταν στο πρωτογενές καταληκτικό σημείο κατά 19,6% συγκριτικά με τη χορήγηση του συνδυασμού βεναζεπρίλης με HCTZ(125). Επιπλέον, το 3,7% των ασθενών στους οποίους χορηγήθηκε ο συνδυασμός που περιείχε HCTZ εμφάνισε επιδείνωση της νεφρικής λειτουργίας,

οριζόμενη ως διπλασιασμός της κρεατινίνης ορού, $eGFR < 15 \text{ mL/min/1,73m}^2$ ή διενέργεια αιμοκάθαρσης, σε αντιδιαστολή με την ομάδα των ασθενών που έλαβε το συνδυασμό που περιείχε αμλοδιπίνη, όπου το αντίστοιχο ποσοστό ήταν 2% ($p < 0,0001$)(167).

2.2.4. HCTZ έναντι AMEA

Η μελέτη ANBP2 (Second Australian National Blood Pressure Study) σχεδιάστηκε για να συγκρίνει την επίδραση της εναλαπρίλης και της HCTZ σε 6083 υπερτασικούς ασθενείς ηλικίας 65 ως 84 ετών, με τη μέση διάρκεια της παρακολούθησης να φθάνει τα 4,1 έτη. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι η χορήγηση του AMEA σε σύγκριση με το διουρητικό στους άνδρες συνοδεύθηκε από μία μείωση κατά 11% του σχετικού κινδύνου εμφάνισης καρδιαγγειακών συμβαμάτων ή θανάτου, χωρίς ωστόσο τα αντίστοιχα ευρήματα να επεκτείνονται και στο γυναικείο πληθυσμό της μελέτης(143, 168).

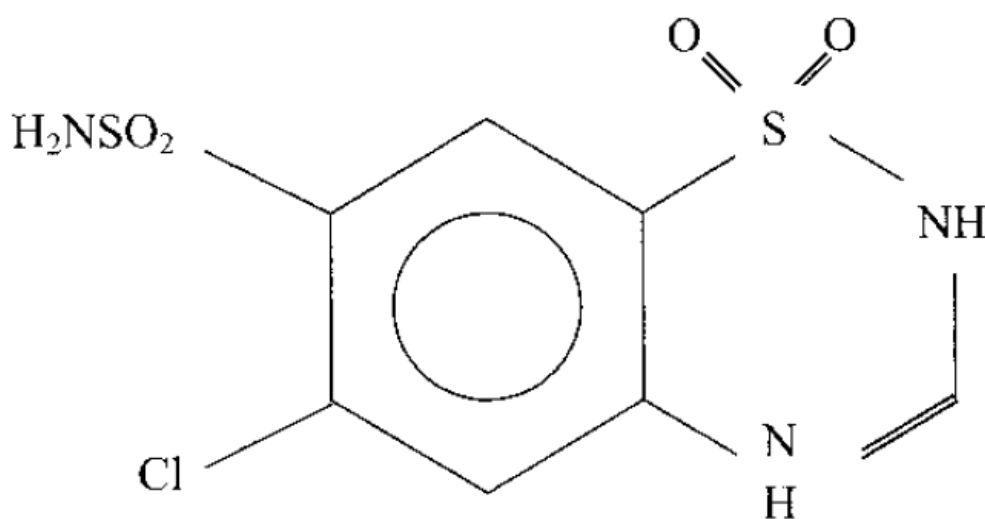
2.3. Πλειοτροπικές δράσεις της HCTZ

Σε σύγκριση με τη χλωροθαλιδόνη και την ινδαπαμίδη η HCTZ έχει ηπιότερη αντιυπερτασική δράση (mg/mg). Πέρα όμως από τη μείωση της ΑΠ, η HCTZ φαίνεται από διάφορες κλινικές μελέτες ότι υπολείπεται των άλλων διουρητικών όσον αφορά επιπρόσθετες πλειοτροπικές δράσεις. Πράγματι σε μια μικρή μελέτη με 24 υπερτασικούς ασθενείς με έκπτωση της νεφρικής λειτουργίας, η χορήγηση της ινδαπαμίδης για 24 μήνες συνοδεύθηκε από μια αύξηση της νεφρικής κάθαρσης κρεατινίνης κατά 28,5%, ενώ η χρήση της HCTZ για το αντίστοιχο χρονικό διάστημα προκάλεσε μια μείωση της νεφρικής κάθαρσης κρεατινίνης κατά 17,4%, υποδηλώνοντας υπεροχή της ινδαπαμίδης έναντι της HCTZ όσον αφορά τη

διατήρηση της νεφρικής λειτουργίας σε ασθενείς με ΧΝΝ(169). Επιπλέον, μια αναδρομική ανάλυση των δεδομένων της μελέτης MRFIT έδειξε ότι σε σύγκριση με την HCTZ η χλωροθαλιδόνη μειώνει την ηλεκτροκαρδιογραφικά μετρούμενη υπερτροφία της αριστεράς κοιλίας(170). Αντίθετα, μια μελέτη σε πειραματόζωα έχει υποστηρίξει ότι η χρήση HCTZ σε ποντίκια με ισχαιμικής αιτιολογίας καρδιακή ανεπάρκεια οδήγησε σε αύξηση του κλάσματος εξώθησης της αριστεράς κοιλίας, μείωση της εναπόθεσης κολλαγόνου και ελάττωση των επιπέδων των κυτταροκινών που ευοδώνουν τη φλεγμονή(171), ενώ μια άλλη μελέτη σε υπερτασικούς ποντικούς έδειξε ότι η χρήση HCTZ δεν μειώνει τους παράγοντες του οξειδωτικού στρες(172).

2.4. Βιοχημικά και φαρμακοκινητικά χαρακτηριστικά HCTZ

Εικ.8 Χημική δομή HCTZ



Η HCTZ έχει τη χημική ονομασία 2H-1,2,4-βενζοθειαζίνη-7-σουλφοναμίδη, 6-χλώρο-3,4-δihδρο-, 1,1-διοξείδιο (Εικ. 8). Διαφέρει από το πρωτότυπο θειαζιδικό

διουρητικό, τη χλωροθειαζίδη, από την προσθήκη ενός ιόντος υδρογόνου σε ένα άτομο αζώτου του σουλφοναμιδικού δακτυλίου(114).

Το φάρμακο εμφανίζει υψηλή βιοδιαθεσιμότητα, αφού απορροφάται το 60-70% της χορηγούμενης από του στόματος δόσης, ενώ η ταυτόχρονη λήψη τροφής ενισχύει την απορρόφησή της(113, 173, 174). Μετά από τη χορήγηση μίας δόσης HCTZ, η μέγιστη συγκέντρωση στο πλάσμα επιτυγχάνεται μετά από δύο ώρες, ενώ ο χρόνος ημίσειας ζωής έχει υπολογιστεί στις 6,5-9 ώρες, ενώ μία μελέτη έχει υπολογίσει αυτό το χρόνο σε μόλις 2,4 ώρες. Σε περιπτώσεις μακροχρόνιας χορήγησης HCTZ ο χρόνος ημίσειας ζωής επιμηκύνεται στις 8-15 ώρες(114). Παρά τον περιορισμένο χρόνο ημίσειας ζωής, οι φαρμακοδυναμικές ιδιότητες της HCTZ επιτρέπουν την εφάπαξ χορήγησή της όπως έχουν δείξει μελέτες βιοδιαθεσιμότητας στις οποίες η χορήγηση 100mg HCTZ εφάπαξ ημερησίως οδήγησε σε αντίστοιχα αντιυπερτασικά αποτελέσματα με τη χορήγηση 50mg HCTZ δις ημερησίως(175).

2.5 Ανεπιθύμητες ενέργειες της HCTZ

Η HCTZ είναι δυνατό να προκαλέσει ορθοστατική υπόταση, ζάλη, υπεργλυκαιμία, υποκαλιαμία, υπερουριχαιμία, υπονατριαμία, υπερλιπιδαιμία, υπερασβεστιαμία, ναυτία, διάρροιες και έκπτωση της νεφρικής λειτουργίας. Σπανιότερα, το φάρμακο μπορεί να προκαλέσει πολύμορφο ερύθημα, κνίδωση, παγκρεατίτιδα, ακοκκιοκυτάρωση, απλαστική αναιμία, αιμολυτική αναιμία, λευκοπενία, θρομβοπενία, γλυκοζουρία, διάμεση νεφρίτιδα, πνευμονίτιδα, αναφυλακτικές αντιδράσεις και ηπατική ανεπάρκεια(176).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. ΑΜΛΟΔΙΠΙΝΗ

3.1. Γενικά

Η αμλοδιπίνη κυκλοφόρησε στην αγορά το 1999 και πλέον είναι ένας από τους πιο συχνά συνταγογραφούμενους DHCCBs με τις επίσημες ενδείξεις της να περιλαμβάνουν την ΑΥ και τη στηθάγχη(177).

3.2. Η αμλοδιπίνη στις κλινικές μελέτες

3.2.1. Μελέτη ALLHAT

Στη μελέτη Antihypertensive and Lipid Lowering Treatment to Prevent Heart Attack Trial (ALLHAT) 33357 υπερτασικοί ασθενείς ηλικίας >55 ετών, με τουλάχιστο ένα επιπλέον παράγοντα κινδύνου εμφάνισης ΚΝ, τυχαιοποιήθηκαν σε 4 ομάδες και έλαβαν αντίστοιχα χλωροθαλιδόνη 12,5 mg, αμλοδιπίνη 2,5 mg, λισινοπρίλη 10-40 mg ή δοξαζοσίνη 2mg με τις δόσεις να τιτλοποιούνται σταδιακά ώστε να επιτευχθεί η μείωση της ΑΠ σε επίπεδα <140/90 mmHg. Το πρωτογενές καταληκτικό σημείο ήταν η θανατηφόρα ΣΝ ή τα μη θανατηφόρα OEM, ενώ τα δευτερογενή καταληκτικά σημεία περιλάμβαναν τη συνολική θνητότητα, τα ΑΕΕ, τη ΣΝ (στεφανιαία επαναγγείωση ή νοσηλεία λόγω στηθάγχης) και την ΚΝ (ΣΝ, ΑΕΕ, στηθάγχη χωρίς νοσηλεία, καρδιακή ανεπάρκεια και περιφερική αρτηριοπάθεια). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι σε σύγκριση με τη χλωροθαλιδόνη η αμλοδιπίνη συνοδεύθηκε από αύξηση κατά 40% της εμφάνισης ΚΑ, χωρίς σημαντικές διαφορές για τα υπόλοιπα πρωτογενή και δευτερογενή καταληκτικά σημεία. Όσον αφορά τη σύγκριση της λισινοπρίλης με την αμλοδιπίνη, η πρώτη χαρακτηρίστηκε από συχνότερη εμφάνιση ΑΕΕ, ΚΝ, αιμορραγίας του γαστρεντερικού συστήματος και

αγγειοιδήματος, ενώ η δεύτερη από συχνότερη εμφάνιση ΚΑ. Επίσης η αμλοδιπίνη ήταν εξίσου αποτελεσματική με τη λισινοπρίλη σε ασθενείς με ΣΔ(98, 178, 179).

3.2.2. Μελέτη VALUE

Η μελέτη Valsartan Antihypertensive Long-term Use Evaluation (VALUE) συνέκρινε την επίδραση της αμλοδιπίνης (5-10 mg) με τη βαλσαρτάνη (80-160 mg) σε 15245 υπερτασικούς ασθενείς ηλικίας >50 ετών οι οποίοι τυχαιοποιήθηκαν σε αμλοδιπίνη ή βαλσαρτάνη, με σταδιακή τιτλοποίηση της δόσης ώστε να επιτευχθούν επίπεδα ΑΠ <140/90 mmHg και με πιθανή προσθήκη HCTZ στις περιπτώσεις μη ρύθμισης της ΑΠ με μονοθεραπεία(124). Η μέση διάρκεια παρακολούθησης ήταν 4,2 έτη και αξίζει να σημειωθεί ότι οι ασθενείς που έλαβαν αμλοδιπίνη εμφάνισαν χαμηλότερη ΣΑΠ συγκριτικά με αυτούς που έλαβαν βαλσαρτάνη. Το ποσοστό των ασθενών που εισήχθησαν για νοσηλεία σε νοσοκομείο λόγω ΚΑ, η συχνότητα εμφάνισης ΑΕΕ καθώς και η ολική θνητότητα δεν εμφάνιζαν διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων. Η βαλσαρτάνη συνοδεύτηκε από μείωση της εμφάνισης ΣΔ κατά 23% σε σύγκριση με την αμλοδιπίνη, ένα γεγονός που αποδόθηκε στην προστατευτική δράση της βαλσαρτάνης, παρά σε πιθανή διαβητογόνο επίδραση της αμλοδιπίνης, η οποία θεωρείται μεταβολικά ουδέτερο φάρμακο(180, 181). Η αρχική ανάλυση των δεδομένων έδειξε ότι η χορήγηση της βαλσαρτάνης συνοδεύθηκε από συχνότερη εμφάνιση OEM σε σύγκριση με τη χορήγηση αμλοδιπίνης, ένα εντυπωσιακό εύρημα αν ληφθούν υπόψη τα αποτελέσματα άλλων μελετών, όπως η μελέτη HOPE (Heart Outcomes Prevention Evaluation study) και η μελέτη EUROPA (European Trial on Reduction of Cardiac Events with Perindopril in Stable Coronary Artery Disease) που είχαν δείξει ότι η αναστολή του ΡΑΑΣ οδηγεί σε μείωση των καρδιαγγειακών

συμβαμάτων(182, 183). Η χαμηλότερη ΣΑΠ στην ομάδα των ασθενών που έλαβε αμλοδιπίνη έναντι της ομάδας που έλαβε βαλσαρτάνη φαίνεται ότι επηρέασε τα αρχικά αποτελέσματα. Πράγματι, μία νεότερη ανάλυση των δεδομένων της μελέτης, η οποία συνέκρινε τους ασθενείς που έλαβαν μονοθεραπεία με βαλσαρτάνη ή αμλοδιπίνη και οι οποίοι εμφάνιζαν παρόμοια επίπεδα ΑΠ κατέληξε στο συμπέρασμα ότι τα δύο φάρμακα δεν εμφάνιζαν διαφορές όσον αφορά την επίδρασή τους στην καρδιαγγειακή θνησιμότητα και νοσηρότητα, παρά μόνο στην εμφάνιση ΚΑ και ΣΔ που ήταν πιο συχνή στους ασθενείς που πήραν αμλοδιπίνη(184).

3.2.3. Μελέτη CAMELOT

Η μελέτη Comparison of Amlodipine versus Enalapril to Limit Occurrences of Thrombosis (CAMELOT) σύγκρινε την επίδραση της χορήγησης αμλοδιπίνης 10 mg ή εναλαπρίλης 20 mg έναντι εικονικού φαρμάκου για 24 μήνες σε 1991 ασθενείς ηλικίας 32-82 ετών, με αγγειογραφικά τεκμηριωμένη στεφανιαία νόσο (στένωση στεφανιαίων αρτηριών >20% με στεφανιογραφία) και ΔΑΠ<100mmHg(185). Το πρωτογενές καταληκτικό σημείο περιλάμβανε την εμφάνιση καρδιαγγειακού συμβάματος (καρδιαγγειακός θάνατος, μη θανατηφόρο ΟΕΜ, ανάνηψη μετά από καρδιακή ανακοπή, στεφανιαία επαναγγείωση, νοσηλεία λόγω ΚΑ ή στηθάγχης, θανατηφόρο ή μη ΑΕΕ, παροδικό ισχαιμικό ΑΕΕ, νεοδιαγνωσθείσα περιφερική αρτηριοπάθεια). Τα δευτερογενή καταληκτικά σημεία περιλάμβαναν την ολική θνησιμότητα, την επαναγγείωση σε αγγεία που είχαν υποβληθεί σε τοποθέτηση ενδοαγγειακού προθέματος (stent) και την εμφάνιση ανεπιθύμητων ενεργειών. Μία υποομάδα 274 ασθενών υποβλήθηκε σε ενδοαγγειακό υπερηχογράφημα των

στεφανιαίων αγγείων για να προσδιοριστεί η ικανότητα των φαρμάκων της μελέτης να επιβραδύνουν την εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης(185). Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο η αμλοδιπίνη μείωσε τα καρδιαγγειακά συμβάματα κατά 31%, ενώ η αντίστοιχη μείωση για την εναλαπρίλη ήταν 15% και δεν ήταν στατιστικά σημαντική. Η σύγκριση των δύο φαρμάκων δεν έδωσε ωστόσο στατιστικά σημαντικές διαφορές. Περαιτέρω, η αμλοδιπίνη μείωσε τα περιστατικά καρδιαγγειακής επαναγγείωσης κατά 27,4% ($p=0.03$), νοσηλείας λόγω στηθάγχης κατά 42,2% ($p=0.002$) και ανάνηψης μετά από καρδιακή ανακοπή ($p=0.04$) έναντι του εικονικού φαρμάκου, ενώ έναντι της εναλαπρίλης παρατηρήθηκε μείωση κατά 41% στις νοσηλείες λόγω στηθάγχης ($p=0.003$). Στην υποομάδα των ασθενών που υποβλήθηκαν σε ενδοαγγειακό υπερηχογράφημα, παρατηρήθηκε μία τάση για επιβράδυνση της εξέλιξης της αθηροσκλήρωσης στους ασθενείς που έλαβαν αμλοδιπίνη έναντι αυτών που έλαβαν εικονικό φάρμακο. Συμπερασματικά, η μελέτη CAMELOT έδειξε ότι η αμλοδιπίνη μειώνει τα καρδιαγγειακά συμβάματα ενώ φαίνεται ότι επιβραδύνει την εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης, μια παρατήρηση που συμβαδίζει με τα αποτελέσματα της μελέτης ELSA (European Lacidipine Study on Atherosclerosis), στην οποία η χορήγηση ενός άλλου DHCCB, της λασιδιπίνης, οδήγησε σε μικρότερη αύξηση του πάχους του έσω μέσου χιτώνα των καρωτίδων σε σύγκριση με τη χορήγηση ατενολόλης(186).

3.2.4. Μελέτη ASCOT-BPLA

Η μελέτη ASCOT-BPLA (Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial – Blood Pressure Lowering Arm) συνέκρινε τη χορήγηση αμλοδιπίνης (5-10 mg) με την πιθανή

προσθήκη περινδοπρίλης (4-8 mg) έναντι ατενολόλης (50-100 mg) με την πιθανή προσθήκη βενδροφλουμεθειαζίδης (1,25-2,5 mg) σε 19257 ενήλικες (40-79 ετών) υπερτασικούς ασθενείς με τουλάχιστον 3 παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου. Το πρωτογενές καταληκτικό σημείο περιλάμβανε τα μη θανατηφόρα OEM και τα θανατηφόρα καρδιαγγειακά συμβάματα. Στα δευτερογενή και τριτογενή καταληκτικά σημεία συμπεριλήφθηκαν η ολική θνησιμότητα, η εμφάνιση ΑΕΕ, ΣΝ, καρδιαγγειακών συμβαμάτων, ΚΑ καθώς και η εμφάνιση σιωπηλού OEM, ασταθούς στηθάγχης, χρόνιας σταθερής στηθάγχης, περιφερικής αρτηριοπάθειας, απειλητικής για τη ζωή καρδιακής αρρυθμίας, ΣΔ, έκπτωσης νεφρικής λειτουργίας. Η μελέτη διακόπηκε πρώιμα μετά από 5,5 έτη μέση διάρκεια παρακολούθησης εξαιτίας σημαντικής μείωσης των θανάτων στην ομάδα των ασθενών που έλαβαν αμλοδιπίνη με περινδοπρίλη. Πράγματι, η χορήγηση αμλοδιπίνης με περινδοπρίλη οδήγησε σε μείωση κατά 10% της εμφάνισης του πρωτογενούς καταληκτικού σημείου, αν και η μείωση αυτή δεν ήταν στατιστικά σημαντική εξαιτίας της πρώιμης διακοπής της μελέτης. Παράλληλα, για την ίδια ομάδα ασθενών παρατηρήθηκε μείωση σε όλα τα δευτερογενή καταληκτικά σημεία και σε ορισμένα τριτογενή (ασταθής στηθάγχη, περιφερική αρτηριοπάθεια, ΣΔ, έκπτωση νεφρικής λειτουργίας). Όλες οι μειώσεις στη θνησιμότητα και στα υπόλοιπα καταληκτικά σημεία ήταν ανεξάρτητες από τη μείωση της ΑΠ, αποκαλύπτοντας ότι ο συνδυασμός αμλοδιπίνης με περινδοπρίλη, πέρα από την αποτελεσματική μείωση της ΑΠ, προσφέρει προστατευτικές δράσεις στα όργανα στόχους ανεξάρτητα από τα επίπεδα της ΑΠ(123, 187).

3.2.5. Άλλες κλινικές μελέτες

Η μελέτη FACET (Fosinopril Versus Amlodipine Cardiovascular Events Randomized Trial) συνέκρινε τη χορήγηση φοσινοπρίλης (20mg) έναντι αμλοδιπίνης (10mg) σε 380 ασθενείς με ΑΠ και ΣΔ για μία περίοδο 3,5 ετών. Κριτήρια αποκλεισμού ήταν το ιστορικό ΣΝ ή ΑΕΕ, κρεατινίνη ορού >1,5 mg/dl, αλβουμίνη ούρων >40 micrograms/min, λήψη υπολιπιδαιμικής αγωγής, ασπιρίνης ή άλλων αντιυπερτασικών φαρμάκων εκτός από β αναστολείς ή διουρητικά. Τα δύο φάρμακα της μελέτης δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές όσον αφορά τα επίπεδα της ολικής χοληστερόλης, της LDL χοληστερόλης, της HbA1c, της γλυκόζης νηστείας και της ινσουλίνης πλάσματος. Όμως, η χορήγηση φοσινοπρίλης μείωσε κατά 51% τον κίνδυνο εμφάνισης OEM, ΑΕΕ ή νοσηλείας λόγω στηθάγχης σε σύγκριση με τη χορήγηση αμλοδιπίνης (7,4vs14,1%)(188).

Στη μελέτη PREVENT (Prospective Randomized Evaluation of the Vascular Effects of Norvasc Trial) η χορήγηση αμλοδιπίνης έναντι εικονικού φαρμάκου σε 825 ασθενείς με αγγειογραφικά τεκμηριωμένη στένωση στεφανιαίων αρτηριών, δεν φάνηκε να υπερέχει όσον αφορά την εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης των στεφανιαίων αγγείων σε μία διάρκεια παρακολούθησης 3 ετών. Στην ίδια μελέτη, το υπερηχογραφικά μετρούμενο πάχος του έσω μέσου χιτώνα των καρωτίδων φάνηκε να υποστρέφει στην ίδια χρονική περίοδο στους ασθενείς που έλαβαν αμλοδιπίνη, ενώ αυξήθηκε σε αυτούς που έλαβαν εικονικό φάρμακο ($p=0.007$)(189).

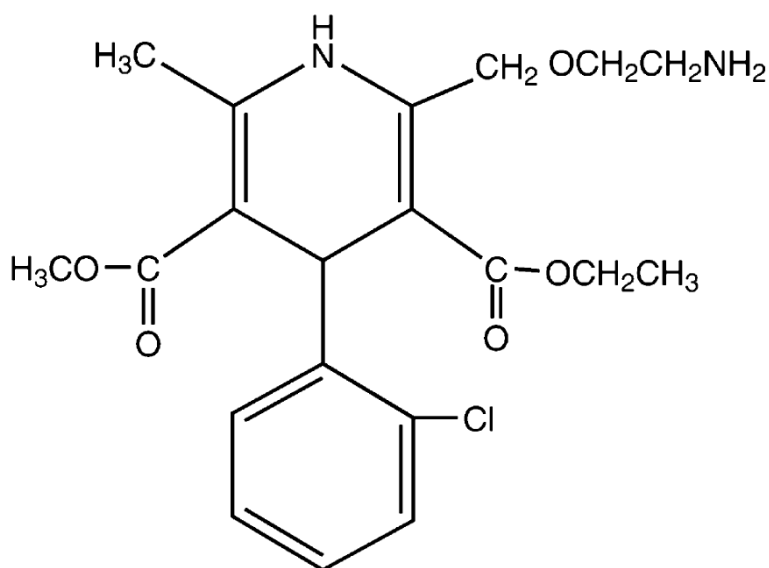
Η μελέτη CASE-J (Candesartan Antihypertensive Survival Evaluation in Japan) συνέκρινε τη χορήγηση καντεσαρτάνης ή αμλοδιπίνης σε 4728 υπερτασικούς ασθενείς υψηλού καρδιαγγειακού κινδύνου, μέσης ηλικίας 63,8 ετών. Μετά από μία περίοδο παρακολούθησης 3,2 ετών, οι δύο φαρμακευτικοί παράγοντες δεν

εμφάνισαν διαφορές όσον αφορά την επίδρασή τους στην εμφάνιση καρδιαγγειακών συμβαμάτων. Σε ασθενείς με υπερτροφία της αριστεράς κοιλίας, και τα δύο φάρμακα οδήγησαν σε μείωση της μάζας της αριστεράς κοιλίας με τη μείωση να είναι μεγαλύτερη στους ασθενείς που έλαβαν καντεσαρτάνη. Τέλος, η καντεσαρτάνη μείωσε τον κίνδυνο εμφάνισης ΣΔ κατά 36% σε σύγκριση με την αμλοδιπίνη(190).

3.3. Πλειοτροπικές δράσεις αμλοδιπίνης

Μελέτες σε πειραματόζωα έχουν δείξει ότι η αμλοδιπίνη προκαλεί αύξηση της δραστηριότητας και των επιπέδων του mRNA της ενδοθηλιακής συνθετάσης του NO (eNOS) σε υπερτασικούς ποντικούς, ενώ σε στεφανιαία αγγεία που απομονώθηκαν από μυοκάρδιο σκύλου φάνηκε ότι αυξάνει την παραγωγή NO με δοσοεξαρτώμενο τρόπο(191).

3.4. Βιοχημικά και φαρμακοκινητικά χαρακτηριστικά αμλοδιπίνης



Εικ 9. Χημική δομή αμλοδιπίνης

Η αμλοδιπίνη (Εικ 9) είναι ένας DHCCB με υψηλή βιοδιαθεσιμότητα μετά τη χορήγησή της από του στόματος και κυκλοφορεί στο αίμα συνδεδεμένη με πρωτεΐνες σε ποσοστό 98%. Έχει μεγάλο χρόνο ημίσειας ζωής (40-60 ώρες), ένα γεγονός που επιτρέπει τη χορήγησή της μία φορά την ημέρα. Μετά από μία μοναδική δόση, η ΑΠ μειώνεται μέσα σε 4-8 ώρες για να επιστρέψει σταδιακά στα αρχικά επίπεδα μετά από 24-72 ώρες. Σε χρόνια χορήγηση άπαξ ημερησίως η συγκέντρωσή της στο αίμα παρουσιάζει μικρές διακυμάνσεις (20-25%) μέσα στο 24ωρο, επιτυγχάνοντας διαρκή μείωση της ΑΠ. Ο μεταβολισμός της γίνεται στο ήπαρ διαμέσου του κυτοχρώματος CYP3A4 σε ανενεργούς μεταβολίτες που αποβάλλονται στα ούρα σε ποσοστό 62% με το υπόλοιπο ποσοστό να αποβάλλεται στα κόπρανα, ενώ ένα ποσοστό 5% αποβάλλεται στα ούρα χωρίς να έχει μεταβολιστεί(118, 192-194).

3.5 Ανεπιθύμητες ενέργειες της αμλοδιπίνης

Η συχνότερη ανεπιθύμητη ενέργεια της αμλοδιπίνης είναι η εμφάνιση περιφερικού οιδήματος στο 15% των γυναικών και στο 6% των ανδρών συνήθως 2 – 3 εβδομάδες μετά την έναρξη χορήγησής της. Επίσης μπορεί να προκαλέσει αίσθημα παλμών, κνησμό (1 - 2%), εξάνθημα (1 – 2%), ναυτία (3%), κοιλιακό άλγος (2%), ζάλη, ενώ στους άντρες μπορεί να προκαλέσει στυτική δυσλειτουργία (1 – 2%). Σπανιότερα η χορήγηση αμλοδιπίνης μπορεί να προκαλέσει οξεία διάμεση νεφρίτιδα, αλλεργικές αντιδράσεις, αγγειοοίδημα, αρρυθμίες, λευκοπενία, θρομβοπενία και αύξηση των τρανσαμινασών.

Αξίζει να σημειωθεί ότι η χορήγηση αμλοδιπίνης σε ασθενείς με σοβαρή στένωση της αορτής πρέπει να γίνεται με εξαιρετική προσοχή καθώς μπορεί να προκαλέσει

υποάρδευση των στεφανιαίων αγγείων και επακόλουθη ισχαιμία του μυοκαρδίου(195).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. ΒΑΛΣΑΡΤΑΝΗ

4.1. Γενικά

Η βαλσαρτάνη είναι ένας ARB που έλαβε άδεια κυκλοφορίας από το FDA το 2002(196). Το πρωτότυπο φαρμακευτικό σκεύασμα (Diovan) έφτασε το 2010 να αποτελεί το πρώτο σε πωλήσεις αντιυπερτασικό φάρμακο παγκοσμίως(197). Στην Ελλάδα οι ενδείξεις χορήγησης βαλσαρτάνης είναι οι εξής:

1)Ιδιοπαθής υπέρταση.

2)Μετά από έμφραγμα του μυοκαρδίου (12 ώρες - 10 ημέρες) σε κλινικά σταθερούς ασθενείς με συμπτωματική καρδιακή ανεπάρκεια ή ασυμπτωματική συστολική δυσλειτουργία της αριστεράς κοιλίας.

3)Συμπτωματική καρδιακή ανεπάρκεια σε ασθενείς που δεν μπορούν να λάβουν AMEA ή ως πρόσθετη θεραπεία σε AMEA όταν δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν οι β-αποκλειστές(198).

4.2. Η βαλσαρτάνη στις κλινικές μελέτες

4.2.1. Βαλσαρτάνη έναντι εικονικού φαρμάκου

Στη μελέτη NAVIGATOR (Nateglinide and Valsartan in Impaired Glucose Tolerance Outcomes Research), 9306 ασθενείς με διαταραχή ανοχής στη γλυκόζη και εγκατεστημένη καρδιαγγειακή νόσο ή αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο ακολούθησαν υγιεινοδιαιτητική αγωγή και τυχαιοποιήθηκαν σε βαλσαρτάνη (μέχρι 160 mg) με ή χωρίς νατεγλινίδη ή σε εικονικό φάρμακο με ή χωρίς νατεγλινίδη. Η μελέτη διήρκησε 5 έτη και σκοπός της ήταν η μελέτη της επίδρασης της βαλσαρτάνης στην εμφάνιση ΣΔ, καθώς και στην καρδιαγγειακή θνησιμότητα και

νοσηρότητα (μη θανατηφόρο OEM, μη θανατηφόρο AEE, νοσηλεία λόγω ΚΑ, αρτηριακή επαναγγείωση, νοσηλεία λόγω ασταθούς στηθάγχης). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο η βαλσαρτάνη μείωσε τον κίνδυνο εμφάνισης ΣΔ (33,1% έναντι 36,8%), αλλά απέτυχε να μειώσει την καρδιαγγειακή θνητότητα και νοσηρότητα(199).

Στη μελέτη VAL-HeFT (Valsartan Heart Failure Trial) συγκρίθηκε η χορήγηση βαλσαρτάνης 160 mg b.i.d. έναντι εικονικού φαρμάκου σε 5010 ασθενείς με ΚΑ (New York Heart Association [NYHA] class II–IV), οι οποίοι ελάμβαναν την κλασική αγωγή για την ΚΑ και παρακολουθήθηκαν για μία μέση διάρκεια 23 μηνών. Η βαλσαρτάνη μείωσε το συνδυασμό καρδιαγγειακής θνητότητας και νοσηρότητας κατά 13% έναντι του εικονικού φαρμάκου (13.8% έναντι 18.2%, $p < 0.001$) και η μείωση αυτή αποδόθηκε κατά κύριο λόγο στον περιορισμό των περιστατικών νοσηλείας λόγω ΚΑ. Περαιτέρω, η βαλσαρτάνη βελτίωσε το στάδιο ΚΑ κατά NYHA, το κλάσμα εξώθησης της αριστεράς κοιλίας, τα σημεία και συμπτώματα ΚΑ, καθώς και την ποιότητα ζωής των ασθενών(200). Επιπρόσθετες αναλύσεις της μελέτης VAL-HeFT έδειξαν ότι η βαλσαρτάνη ήταν αποτελεσματική τόσο στους ασθενείς που ελάμβαναν ήδη ΑΜΕΑ (αλλά όχι β-αποκλειστή)(201) όσο και σε αυτούς που δεν ελάμβαναν ΑΜΕΑ(202), καθώς και ότι οι ευεργετικές επιδράσεις της αφορούσαν εξίσου τα δύο φύλα(203), όπως επίσης και τους ηλικιωμένους και μη ασθενείς(204). Τέλος, σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο η βαλσαρτάνη μειώνει κατά 37% την εμφάνιση ΚΜ σε ασθενείς με ΚΑ(205).

4.2.2. Βαλσαρτάνη έναντι CCB

Τα αποτελέσματα της μελέτης VALUE αναφέρθηκαν σε προηγούμενο κεφάλαιο.

Στη μελέτη VART (Valsartan Amlodipine Randomized Trial) τυχαιοποιήθηκαν 1021 Ιάπωνες ασθενείς με ιδιοπαθή ΑΥ σε βαλσαρτάνη ή αμλοδιπίνη για 3,4 έτη. Το πρωτογενές καταληκτικό σημείο της μελέτης περιλάμβανε το συνδυασμό θανάτου από οποιοδήποτε αίτιο, αιφνίδιου θανάτου, νέου ΑΕΕ (παροδικού ή μη), καρδιακών συμβαμάτων (ΟΕΜ, στηθάγχη, νεοεμφανισθείσα ή επιδεινωθείσα ΚΑ), αγγειακών συμβαμάτων (διαχωριστικό ανεύρυσμα αορτής, νοσηλεία λόγω αθηρωσκληρωτικής απόφραξης περιφερικών αρτηριών) και νεφρικών συμβαμάτων (διπλασιασμός κρεατινίνης ορού ή τελικού σταδίου νεφρική ανεπάρκεια). Τα δευτερογενή καταληκτικά σημεία περιλάμβαναν την επίδραση του φαρμάκου στην υπερτροφία της αριστεράς κοιλίας, στη δραστηριότητα του συμπαθητικού νευρικού συστήματος της καρδιάς, στα επίπεδα της νορεπινεφρίνης στο αίμα, στη νεφρική λειτουργία και στο νεοεμφανισθέντα ΣΔ. Αξίζει να σημειωθεί ότι τα επίπεδα της ΑΠ δεν εμφάνιζαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων. Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές όσον αφορά στο πρωτογενές καταληκτικό σημείο. Αντίθετα, σε σύγκριση με την αμλοδιπίνη, η βαλσαρτάνη οδήγησε σε σημαντική μείωση της μάζας της αριστεράς κοιλίας, σε μείωση της δραστηριότητας του συμπαθητικού νευρικού συστήματος της καρδιάς και σε μείωση του λόγου αλβουμίνη προς κρεατινίνη ούρων. Από τη μελέτη VART λοιπόν προέκυψε το συμπέρασμα ότι σε σύγκριση με την αμλοδιπίνη, η βαλσαρτάνη ασκεί προστατευτικές δράσεις στην καρδιά και στους νεφρούς Ιαπώνων υπερτασικών ασθενών(206).

Στη μελέτη MARVAL (MicroAlbuminuria Reduction With VALsartan) 332 ασθενείς με διαβητική νευροπάθεια τυχαιοποιήθηκαν σε βαλσαρτάνη (80mg) ή αμλοδιπίνη (5mg). Η τιμή στόχος της ΑΠ ήταν <135/85mmHg και ο σχεδιασμός της μελέτης

περιλάμβανε όπου χρειαζόταν διπλασιασμό της δόσης του φαρμάκου και στη συνέχεια προσθήκη βενδροφλουαζίδης ή δοξαζοσίνης. Με την ολοκλήρωση της μελέτης, μετά από 24 βδομάδες παρακολούθησης, η βαλσαρτάνη οδήγησε σε μεγαλύτερη μείωση (κατά 44%) της αλβουμινουρίας σε σύγκριση με την αμλοδιπίνη (μείωση κατά 8%)(207).

4.2.3. Βαλσαρτάνη έναντι AMEA

Στη μελέτη VALIANT (Valsartan in Acute Myocardial Infarction) 14703 ασθενείς, 0.5-10 μέρες μετά από ένα OEM, τυχαιοποιήθηκαν σε βαλσαρτάνη (20 mg), καπτοπρίλη (6,25 mg) ή συνδυασμό τους, με σταδιακή τιτλοποίηση των δόσεων ώστε να επιτευχθούν αντίστοιχα δόσεις βαλσαρτάνης 160 mg b.i.d., καπτοπρίλης 50 mg t.i.d. ή βαλσαρτάνης 80 mg b.i.d. σε συνδυασμό με καπτοπρίλη 50 mg t.i.d. μετά από μία περίοδο 3 μηνών. Στους ασθενείς που εντάχθηκαν στη μελέτη συνυπήρχε δυσλειτουργία της ΑΚ ή/και ΚΑ. Το πρωτογενές καταληκτικό σημείο της μελέτης ήταν ο θάνατος από κάθε αιτία. Μετά από μία μέση περίοδο παρακολούθησης 24,7 μηνών απεβίωσε το 19,9% των ασθενών που έλαβε βαλσαρτάνη, το 19,5% των ασθενών που έλαβε καπτοπρίλη και το 19,3% των ασθενών που έλαβε το συνδυασμό των δύο φαρμάκων. Όσον αφορά την εμφάνιση ανεπιθύμητων ενεργειών, η χορήγηση βαλσαρτάνης συνοδεύθηκε από την εμφάνιση υπότασης και έκπτωσης της νεφρικής λειτουργίας, ενώ η χορήγηση της καπτοπρίλης συνοδεύθηκε από εμφάνιση ξηρού βήχα, εξανθήματος και διαταραχών της γεύσης. Ο συνδυασμός των δύο φαρμάκων οδήγησε συνολικά σε συχνότερη εμφάνιση ανεπιθύμητων ενεργειών συγκριτικά με τη χορήγηση μονοθεραπείας. Συμπερασματικά, η μελέτη VALIANT έδειξε ότι η χορήγηση βαλσαρτάνης σε

ασθενείς με πρόσφατο OEM μειώνει εξίσου τον καρδιαγγειακό κίνδυνο με τη χορήγηση καπτοπρίλης, ενώ ο συνδυασμός αυτών των φαρμάκων συνοδεύεται από συχνότερη εμφάνιση ανεπιθύμητων ενεργειών, χωρίς να βελτιώνει την επιβίωση των ασθενών σε σύγκριση με τη μονοθεραπεία(208).

4.3. Πλειότροπες δράσεις της βαλσαρτάνης

Σε μικρού μεγέθους μελέτες η χορήγηση βαλσαρτάνης σε υπερτασικούς ασθενείς είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση των επιπέδων ινσουλίνης νηστείας στο αίμα και του δείκτη HOMA-IR(209, 210). Η ευεργετική επίδραση της βαλσαρτάνης στο γλυκαιμικό προφίλ επιβεβαιώθηκε από την ανάλυση των δεδομένων της μελέτης VALUE στην υποομάδα των μη διαβητικών ασθενών. Συγκεκριμένα, σε 9995 ασθενείς η χορήγηση βαλσαρτάνης έναντι της αμλοδιπίνης είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση του κινδύνου εμφάνισης ΣΔ κατά 23%(180). Τέλος, όπως έχει αναφερθεί προηγουμένως, στη μελέτη NAVIGATOR η βαλσαρτάνη μείωσε τον κίνδυνο εμφάνισης ΣΔ έναντι του εικονικού φαρμάκου σε ασθενείς με διαταραχή ανοχής στη γλυκόζη(199).

Η βαλσαρτάνη μειώνει την αλβουμινουρία σε διαβητικούς ασθενείς και η μείωση αυτή φαίνεται ότι είναι ανεξάρτητη από τη μείωση της ΑΠ(211). Την ίδια επίδραση φαίνεται ότι ασκεί και σε ασθενείς με αλβουμινουρία μη διαβητικής αιτιολογίας. Πράγματι, η χορήγηση χαμηλών δόσεων βαλσαρτάνης (40-80 mg) σε ασθενείς με μη διαβητική νεφροπάθεια οδήγησε σε μείωση κατά 33% της αλβουμινουρίας μετά από ένα χρόνο, ενώ η χορήγηση εικονικού φαρμάκου για το ίδιο χρονικό διάστημα προκάλεσε αύξηση της αλβουμινουρίας κατά 32%(212).

Όσον αφορά την επίδραση της βαλσαρτάνης στις λιπιδαιμικές παραμέτρους, φαίνεται ότι το φάρμακο προκαλεί μικρή μείωση των επιπέδων της TCHOL και της LDL-CHOL, ενώ δεν παρατηρούνται μεταβολές στα επίπεδα των TRG και της HDL-CHOL(213).

Η βαλσαρτάνη φαίνεται ότι ασκεί ευεργετική επίδραση σε βιολογικούς δείκτες που συσχετίζονται με τη δυσλειτουργία του ενδοθηλίου και τον καρδιαγγειακό κίνδυνο. Έτσι, η μονοθεραπεία με βαλσαρτάνη είχε ως αποτέλεσμα μείωση των επιπέδων της hs-CRP σε αντιδιαστολή με τη μονοθεραπεία με HCTZ που προκαλεί αύξησή τους, ενώ ο συνδυασμός αυτών των δύο αντιυπερτασικών ουσιών φαίνεται ότι ασκεί ουδέτερη δράση στα επίπεδα της hs-CRP(214, 215).

4.4. Βιοχημικά και φαρμακοκινητικά χαρακτηριστικά βαλσαρτάνης

Η απόλυτη βιοδιαθεσιμότητα της βαλσαρτάνης μετά την από του στόματος χορήγηση με τη μορφή δισκίου φτάνει το 23% και μειώνεται με τη συγχορήγηση τροφής. Μετά την απορρόφησή της η βαλσαρτάνη κυκλοφορεί συνδεδεμένη με πρωτεΐνες του αίματος, κυρίως αλβουμίνη, σε ποσοστό 94-97%. Από την ποσότητα του φαρμάκου που απορροφάται, μόνο ένα ποσοστό 25% μεταβολίζεται στο ήπαρ με κύριο προϊόν τον ανενεργό μεταβολίτη βαλέρυλ 4-υδρόξυ βαλσαρτάνη. Ο χρόνος ημίσειας ζωής είναι 7,1 ώρες , αλλά η ισχυρή αντιυπερτασική δράση του φαρμάκου επιτρέπει τη χορήγηση του άπαξ ημερησίως. Από τη χορηγούμενη δόση το 83% αποβάλλεται στα κόπρανα και το 13% στα ούρα(216, 217).

4.5 Ανεπιθύμητες ενέργειες της βαλσαρτάνης

Οι συχνότερες παρενέργειες της βαλσαρτάνης είναι η ζάλη και η αύξηση των επιπέδων της ουρίας στο αίμα, που εμφανίζονται σε ποσοστό >10% των ασθενών. Ακόμη, το φάρμακο μπορεί να προκαλέσει υπόταση, αύξηση των επιπέδων της κρεατινίνης του ορού, ουδετεροπενία (2%) και βήχα. Το 4-10% των ασθενών εμφανίζει αύξηση των επιπέδων του K^+ στο αίμα >20% ή και υπερκαλιαιμία. Σπανιότερα, η χορήγηση βαλσαρτάνης έχει συνδεθεί με την εμφάνιση αλλεργικών αντιδράσεων, αγγειοοιδήματος, τρανσαμινασαιμία, εξανθήματος, νεφρικής ανεπάρκειας και θρομβοπενίας.

Η χρήση της βαλσαρτάνης πρέπει να αποφεύγεται σε ασθενείς με αμφοτερόπλευρη στένωση των νεφρικών αρτηριών εξαιτίας του αυξημένου κινδύνου εμφάνισης οξείας νεφρικής ανεπάρκειας. Επίσης, σε ασθενείς με ΚΑ η έναρξη χορήγησης βαλσαρτάνης πρέπει να γίνεται με ιδιαίτερη προσοχή λόγω του κινδύνου εμφάνισης υπότασης, ενώ τα επίπεδα της κρεατινίνης του ορού, της ουρίας και του K^+ στο αίμα θα πρέπει να παρακολουθούνται στενά, ειδικά σε άτομα με ιστορικό νεφρικής νόσου.

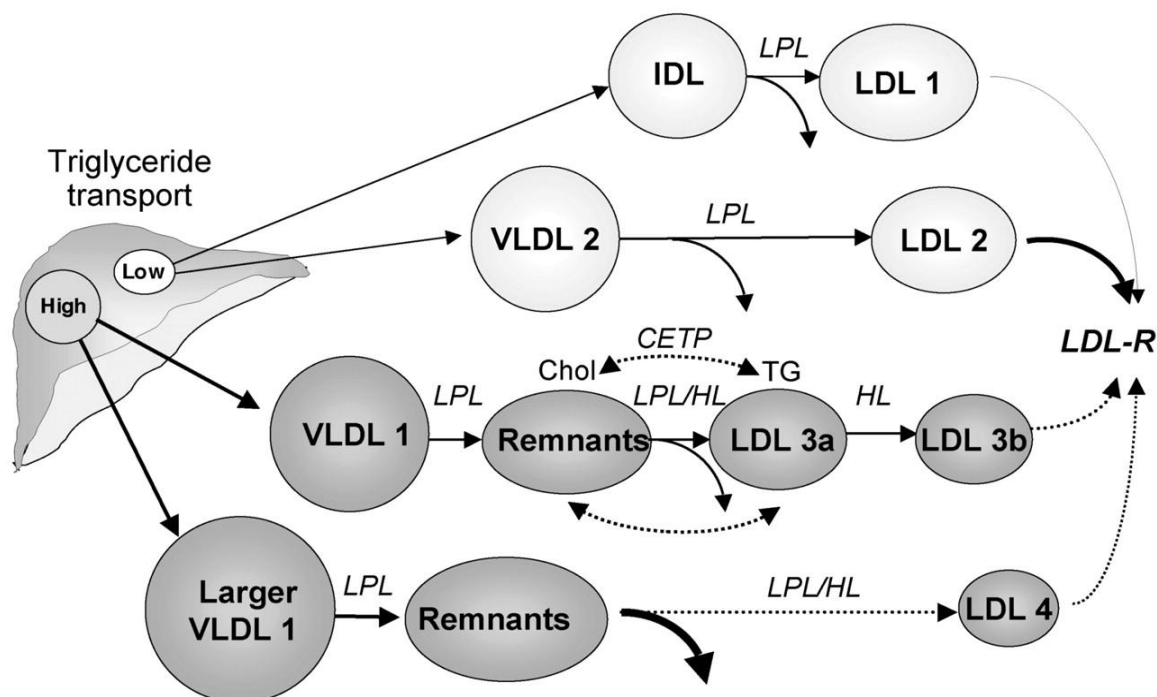
Τέλος, πρέπει να σημειωθεί ότι η χορήγηση της βαλσαρτάνης απαγορεύεται κατά τη διάρκεια της κύησης εξαιτίας του κινδύνου εμφάνισης εμβρυικών βλαβών ή και θανάτου του εμβρύου(218).

ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΕΙΔΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΠΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΘΗΚΑΝ ΣΤΗ ΜΕΛΕΤΗ

5.1 ΜΙΚΡΑ ΠΥΚΝΑ LDL (sdLDL) ΣΩΜΑΤΙΔΙΑ

5.1.1 Σχηματισμός των sdLDL σωματιδίων (εικόνα 10)

Οι LDL είναι ένας ετερογενής πληθυσμός σωματιδίων όσον αφορά το μέγεθος, την πυκνότητα και τη χημική τους σύσταση(219). Το 1988, οι Austin και συν(220) αναγνώρισαν δύο LDL φαινότυπους ανάλογα με το μέγεθος των LDL σωματιδίων: ο φαινότυπος A, που χαρακτηρίζεται από επικράτηση των μεγάλων LDL σωματιδίων (>255 Å), και ο φαινότυπος B, που χαρακτηρίζεται από επικράτηση των sdLDL σωματιδίων (<255 Å).



Εικόνα 10. Σχηματισμός των μικρών πυκνών LDL σωματιδίων

Επιπρόσθετα, οι Austin και συν(220) έδειξαν ότι ο φαινότυπος B συσχετίζεται με αυξημένα επίπεδα τριγλυκεριδίων. Περίπου το 50% της μεταβλητότητας του μεγέθους των LDL σωματιδίων καθορίζεται από τη συγκέντρωση των τριγλυκεριδίων στον ορό(221-223). Σε άτομα με υπερτριγλυκεριδαιμία, αυξάνεται η μεταφορά τριγλυκεριδίων από τις πλούσιες σε τριγλυκερίδια λιποπρωτεΐνες (VLDL και χυλομικρά) στις LDL (που είναι πτωχές σε τριγλυκερίδια) και η μεταφορά εστέρων χοληστερόλης από τις LDL στις πλούσιες σε τριγλυκερίδια λιποπρωτεΐνες (που είναι πτωχές σε χοληστερόλη). Η μετακίνηση αυτή των λιπιδίων γίνεται με τη δράση της CETP(224-226) και οδηγεί στο σχηματισμό πλούσιων σε τριγλυκερίδια και πτωχών σε χοληστερόλη LDL σωματιδίων. Τα τριγλυκερίδια αυτών των LDL στη συνέχεια υδρολύονται από την ηπατική λιπάση με τελικό αποτέλεσμα το σχηματισμό των sdLDL σωματιδίων(224, 226-228). Η δραστηριότητα της ηπατικής λιπάσης επηρεάζεται από τις ορμόνες του φύλου(219, 227).

Υπάρχουν δεδομένα που υποστηρίζουν ότι υπάρχει γενετική προδιάθεση για την εμφάνιση των sdLDL(229-238). Άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν τα επίπεδα των sdLDL είναι το κάπνισμα(239, 240), η διατροφή(241-243), τα επίπεδα της HDL-C(244), οι πολυμορφισμοί της CETP(245-248), της HL(245, 248, 249), της LPL(248, 250) και της apoA-V(251, 252), καθώς και ο γονότυπος του LDL υποδοχέα(253) σε ασθενείς με οικογενή υπερχοληστερολαιμία.

5.1.2 Αθηρογόνος δυνατότητα των sdLDL σωματιδίων

Οι φυσικοχημικές ιδιότητες των sdLDL σωματιδίων τους προσδίδουν αυξημένη αθηρογόνο δυνατότητα. Τα sdLDL διεισδύουν εύκολα στον υπενδοθηλιακό χώρο του αρτηριακού τοιχώματος και συνδέονται με τις πρωτεογλυκάνες του έσω

χιτώννα(254, 255). Επιπρόσθετα, τα sdLDL εμφανίζουν αυξημένη ευαισθησία στην οξείδωση με αποτέλεσμα την πρόσληψή τους από τα μακροφάγα και τη διευκόλυνση του σχηματισμού αφρωδών κυττάρων(256). Τα οξειδωμένα LDL σωματίδια αναστέλλουν την αγγειοδιαστολή που εξαρτάται από το ενδοθήλιο και προάγουν τη δυσλειτουργία του ενδοθηλίου(257, 258). Τα sdLDL σωματίδια δεν αναγνωρίζονται εύκολα από τον LDL υποδοχέα με αποτέλεσμα τη μεγαλύτερη παραμονή τους στην κυκλοφορία(259-262).

5.1.3 Συσχέτιση με την εμφάνιση της ΚΝ

Η συσχέτιση μεταξύ των sdLDL σωματιδίων και της ΚΝ έχει εκτιμηθεί σε αρκετές μελέτες, οι περισσότερες από τις οποίες έδειξαν ότι υπάρχει σημαντική θετική συσχέτιση(263, 264). Η επικράτηση των sdLDL συσχετίζεται με 2-5 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης ΣΝ (ΟΕΜ ή αγγειογραφικά επιβεβαιωμένη ΣΝ) σε αρκετές συγχρονικές μελέτες(220, 265-269). Επιπρόσθετα, αρκετές προοπτικές μελέτες έδειξαν ότι το μικρό μέγεθος των LDL σωματιδίων αποτελεί προγνωστικό δείκτη για την εμφάνιση ΣΝ(270-273). Στην Quebec Cardiovascular Study, μια μέγιστη διάμετρος των LDL σωματιδίων <25.4 nm συσχετιζονταν με μία κατά 3.6 φορές αύξηση του κινδύνου εμφάνισης ΣΝ (95% CI 1.5-8.8)(271). Η συσχέτιση αυτή ήταν ανεξάρτητη από τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων, της HDL-C και της LDL-C, αλλά γίνονταν μικρότερη μετά τη διόρθωση για τα επίπεδα της apoB και του λόγου ολική χοληστερόλη/HDL-C. Μία ανάλυση των αποτελεσμάτων της ίδιας μελέτης έδειξε ότι η συγκέντρωση της sdLDL-C συσχετιζονταν με τη σοβαρότητα της ΣΝ ανεξάρτητα από τα επίπεδα της LDL-C, της HDL-C και της apoB ($p < 0.05$)(274). Ωστόσο, η προοπτική μελέτη EPIC-Norfolk έδειξε ότι η συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων της

sdLDL-C και της εμφάνισης ΣΝ δεν ήταν ανεξάρτητη από τις άλλες λιπιδαιμικές παραμέτρους(275).

Παρά την πληθώρα των ενδείξεων για την ύπαρξη συσχέτισης μεταξύ των sdLDL σωματιδίων και του κινδύνου εμφάνισης ΚΝ, υπάρχουν δεδομένα που δεν υποστηρίζουν την ύπαρξη μιας τέτοιας συσχέτισης. Για παράδειγμα, μια μελέτη ασθενών/μαρτύρων έδειξε ότι νορμολιπιδαιμικοί ασθενείς με ΣΝ είχαν αυξημένο μέγεθος LDL σωματιδίων σε σύγκριση με υγιείς εθελοντές και ότι η συσχέτιση των μεγάλων LDL σωματιδίων με τη ΣΝ ήταν ανεξάρτητη από την ηλικία, το BMI, καθώς και από τα επίπεδα της HDL-C και της VLDL-C(276). Επίσης, το αυξημένο μέγεθος των LDL σωματιδίων ήταν ανεξάρτητος δείκτης για την εμφάνιση νέων ΟΣΣ σε ασθενείς με ΣΝ(277).

Αρκετές μελέτες έδειξαν ότι υπάρχει συσχέτιση μεταξύ των sdLDL σωματιδίων και της αθηροσκληρωτικής νόσου των καρωτίδων(278-280).

5.2 Υποκλάσματα της HDL

Πολλές κλινικές και επιδημιολογικές μελέτες έδειξαν την αρνητική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων της HDL-C και του κινδύνου εμφάνισης ΚΝ(281). Οι HDL δεν αποτελούνται από ομοιογενή σωματίδια αλλά από διακριτά υποκλάσματα που διαφέρουν ως προς το μέγεθος, την πυκνότητα, τη σύσταση και άλλες φυσικοχημικές παραμέτρους(282). Διάφορες μέθοδοι που χρησιμοποιούν ως αρχή τη διαφορετική πυκνότητα, το μέγεθος ή το φορτίο των σωματιδίων (υπερφυγοκέντρηση, ηλεκτροφόρηση, πυρηνικός μαγνητικός συντονισμός κλπ.) έχουν χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό των υποκλασμάτων των HDL(283). Ωστόσο, πρέπει να αναφερθεί ότι καμία από τις μεθόδους προσδιορισμού δεν έχει

δώσει οριστικά συμπεράσματα όσον αφορά την προγνωστική αξία των διαφόρων υποκλασμάτων. Ορισμένες μελέτες έδειξαν ότι οι ασθενείς με ΣΝ έχουν μικρότερα και μεγαλύτερης πυκνότητας HDL σωματίδια και οδήγησαν στη θεώρηση ότι τα μεγάλα HDL σωματίδια παρέχουν μεγαλύτερη προστασία. Τα τελευταία έτη διάφορες μελέτες έδειξαν ότι οι αντιαθηρογόνες ιδιότητες της HDL κυρίως αποδίδονται στα μικρά HDL σωματίδια, που αποτελούν αποτελεσματικούς υποδοχείς χοληστερόλης και χαρακτηρίζονται από αυξημένη αντιοξειδωτική ικανότητα σε σύγκριση με τα μεγάλα HDL σωματίδια(282, 284, 285).

Γενικότερα φαίνεται ότι οι αντιαθηρογόνες δράσεις των HDL σωματιδίων είναι αναποτελεσματικές σε ασθενείς με αθηροσκληρωτική νόσο(286). Μάλιστα, νοσολογικές οντότητες όπως το ΜετΣ και ο ΣΔ2 χαρακτηρίζονται όχι μόνο από χαμηλά επίπεδα HDL-C αλλά επίσης από δυσλειτουργικά HDL σωματίδια. Αυτά τα δυσλειτουργικά σωματίδια χαρακτηρίζονται από μεταβολές της δομής και του μεταβολισμού τους. Συγκεκριμένα έχει αναφερθεί εμπλουτισμός του πυρήνα τους με τριγλυκερίδια, διαταραχή του σχηματισμού της apoA-I, αντικατάσταση της apoA-I από αμυλοειδές A και οξειδωτική τροποποίηση της λιποπρωτεΐνης (286).

5.3 Η ΣΥΝΔΕΔΕΜΕΝΗ ΜΕ ΛΙΠΟΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΦΩΣΦΟΛΙΠΑΣΗ A₂ (LIPOPROTEIN ASSOCIATED PHOSPHOLIPASE A₂, LpPLA₂)

5.3.1 Ο παράγοντας ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (PAF)

Ο παράγοντας ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (platelet activating factor, PAF) είναι ένα αιθερικό φωσφολιπίδιο με πολυάριθμες βιολογικές δράσεις. Οφείλει την ονομασία του στην ιδιότητα του να επάγει την έκκριση βιοδραστικών ουσιών από τα αιμοπετάλια, καθώς και τη συσσώρευση αυτών των κυττάρων(287).

In vitro πειράματα έδειξαν ότι διάφοροι τύποι ανθρώπινων κυττάρων έχουν την ικανότητα να παράγουν PAF τόσο σε βασικές συνθήκες όσο και μετά από κατάλληλα ερεθίσματα. Τέτοια κύτταρα είναι τα ενδοθηλιακά κύτταρα(288), τα πολυμορφοπύρρηνα ουδετερόφιλα(289), τα ηωσινόφιλα, τα μακροφάγα, τα μονοκύτταρα(289), τα αιμοπετάλια, τα μαστοκύτταρα, καθώς και τα σπερματοζώαρια(290). Ο PAF δρώντας ως παρακρινές μόριο ενεργοποιεί τα γειτονικά κύτταρα (π.χ. τα αιμοπετάλια, τα μακροφάγα, τα λεία μυϊκά κύτταρα κτλ) επάγοντας βιολογικά φαινόμενα, όπως την προσκόλληση των αιμοπεταλίων, τη βιοσύνθεση εικοσανοειδών, την παραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου κ.τ.λ.(291, 292).

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

Η Lp-PLA₂ του πλάσματος περιγράφηκε για πρώτη φορά από τους Farr και συνεργάτες(293), οι οποίοι παρατήρησαν ότι ο PAF χάνει τη βιολογική του δραστηριότητα όταν επωασθεί παρουσία ορού κουνελιού. Η απενεργοποίηση του PAF οφείλεται στην υδρόλυση του εστερικού δεσμού στη θέση 2 του σκελετού της γλυκερόλης, η οποία έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία του βιολογικά αδρανούς lyso-PAF(294). Το ένζυμο που καταλύει την αντίδραση αυτή ονομάστηκε ακετυλοϋδρολάση του παράγοντα των αιμοπεταλίων (PAF-AH ή LpPLA₂). Το cDNA της LpPLA₂ κωδικοποιεί μία πρωτεΐνη μεγέθους 441 αμινοξέων. Το υπολογιζόμενο με βάση την αλληλουχία των αμινοξέων μοριακό βάρος είναι 45,4 kDa(295, 296).

Μία σειρά από κύτταρα, όπως τα μακροφάγα(297), τα αιμοπετάλια(298, 299), τα ενεργοποιημένα μαστοκύτταρα(300) και τα ηπατοκύτταρα(301) έχουν την ικανότητα να παράγουν και να εκκρίνουν το ένζυμο του πλάσματος. Επιπρόσθετες μελέτες

έδειξαν ότι η LpPLA₂ του πλάσματος παράγεται κυρίως από τα μακροφάγα, τα οποία ωστόσο διατηρούν ένα μικρό μέρος από την ενεργότητα του ενζύμου(302). Η κατανομή του mRNA των κυττάρων των αντίστοιχων οργάνων υποδεικνύει ότι υπάρχει πολύ σημαντική έκφραση της LpPLA₂ του πλάσματος στον εγκέφαλο, στο λευκό λιπώδη ιστό και στον πλακούντα(302). Τέλος, πρόσφατα δεδομένα δείχνουν ότι υπάρχει έκφραση της Lp-PLA₂ στην ανθρώπινη αορτή(303). Τα ηπατοκύτταρα παράγουν σημαντικές ποσότητες Lp-PLA₂ μετά από κατάλληλο ερεθισμό, αλλά το μεγαλύτερο μέρος αυτής της ενζυμικής ενεργότητας εκκρίνεται στη χολή(304). Αντίθετα τα κύτταρα Kupffer του ήπατος (τα οποία ανήκουν στο σύστημα μονοκυττάρων-μακροφάγων) μετά από ερεθισμό με ενδοτοξίνη εκκρίνουν το μεγαλύτερο ποσοστό του παραγόμενου ενζύμου στο πλάσμα(304).

Η LpPLA₂ του πλάσματος είναι ένα υδρόφοβο μόριο, το οποίο κυκλοφορεί συνδεδεμένο με τα λιποπρωτεϊνικά σωματίδια(295). Συγκεκριμένα, το 70-80% της ενεργότητας της LpPLA₂ ανιχνεύεται στις LDL και το υπόλοιπο 20-30% στις HDL(305). Η κατανομή του ενζύμου στα υποκλάσματα των λιποπρωτεϊνών δεν είναι ομοιόμορφη. Έτσι, τόσο στις LDL όσο και στις HDL το μεγαλύτερο μέρος της ενεργότητας του ενζύμου ανιχνεύεται στα μικρά, πυκνά λιποπρωτεϊνικά σωματίδια(306, 307). Επιπρόσθετα, πρέπει να επισημανθεί ότι δεν περιέχουν όλα τα LDL σωματίδια LpPLA₂. Συγκεκριμένα, 1/10000 μεγάλα και 1/100 sdLDL περιέχει LpPLA₂(307), δηλαδή τα περισσότερα LDL σωματίδια δεν περιέχουν LpPLA₂. Μια άλλη λιποπρωτεΐνη η οποία περιέχει υψηλά επίπεδα ενεργότητας της LpPLA₂ είναι η λιποπρωτεΐνη Lp(a)(308, 309).

Παρά το γεγονός ότι μια από τις δράσεις της Lp-PLA₂ είναι η αδρανοποίηση των οξειδωμένων φωσφολιπιδίων που παράγονται σε συνθήκες οξειδωτικού stress, το

ένζυμο υπόκειται και το ίδιο οξειδωτική απενεργοποίηση(305). Τόσο φυσικές (π.χ. ελεύθερες ρίζες οξυγόνου και βαρέα μέταλλα(310, 311)) όσο και μη φυσικές (π.χ. καπνός τσιγάρων(312)) οξειδωτικές ουσίες έχει αναφερθεί ότι έχουν την ικανότητα να απενεργοποιούν την LpPLA₂.

Η παραγωγή της Lp-PLA₂ ρυθμίζεται από διάφορους εξωγενείς παράγοντες, όπως τα υποστρώματα και μια ποικιλία κυτταροκινών και στεροειδών ορμονών, καθώς και από την κυτταρική διαφοροποίηση(313, 314). Επιπρόσθετα, σημαντικό ρόλο στην ικανότητα των φλεγμονωδών και αντιφλεγμονωδών παραγόντων να ρυθμίζουν την έκκριση της LpPLA₂ φαίνεται ότι διαδραματίζει ο βαθμός της διαφοροποίησης των κυττάρων(313, 315-317).

5.3.3 Συσχέτιση της LpPLA₂ με την εμφάνιση της καρδιαγγειακής νόσου

Η LpPLA₂ συνδέεται με την αροΒ των LDL και αυτό το σύμπλοκο μεταφέρεται σε τμήματα του αγγειακού τοιχώματος με αυξημένη ευαισθησία για τη δημιουργία αθηρωματικής πλάκας(318). Η οξείδωση της LDL έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό φωσφολιπιδίων που υδρολύονται από την LpPLA₂ με αποτέλεσμα το σχηματισμό δυο ομάδων βιοενεργών ουσιών, της lysoPC και των oxNEFA(318). Τα κατεξοχήν αθηρογόνα sdLDL σωματίδια περιέχουν σημαντικά μεγαλύτερες συγκεντρώσεις lysoPC σε σύγκριση με τα μεγαλύτερα και λιγότερο αθηρογόνα υποκλάσματα της LDL(319). Ο εμπλουτισμός των sdLDL σωματιδίων με LpPLA₂ έχει ως αποτέλεσμα την αυξημένη παραγωγή lysoPC κατά τη διάρκεια της οξείδωσης αυτών των σωματιδίων σε σύγκριση με τα μεγαλύτερα LDL σωματίδια τόσο σε νορμολιπιδαιμικά άτομα όσο και σε υπερχοληστερολαιμικούς ασθενείς(319, 320). Τα oxNEFA, το δεύτερο προϊόν της αντίδρασης που καταλύεται από την LpPLA₂ του πλάσματος, με τη σειρά τους

δρουν χημειοτακτικά για τα μονοκύτταρα/μακροφάγα(318). Επιπρόσθετα, φαίνεται ότι τόσο η LysPC όσο και τα oxNEFA πιθανά εμπλέκονται και στη μετατροπή μιας σταθερής αθηρωματικής πλάκας σε ασταθή(318, 321).

Σε αντιδιαστολή με την LpPLA₂ του πλάσματος, που αντικατοπτρίζει κυρίως το ποσοστό της ενζυμικής ενεργότητας που βρίσκεται συνδεδεμένο στις λιποπρωτεΐνες που περιέχουν apoB, η LpPLA₂ των HDL (HDL-LpPLA₂) διαθέτει σημαντικές αντιαθηρογόνες ιδιότητες και προστατεύει από την εμφάνιση ΚΝ. Έτσι, αν και ποσοτικά η ενεργότητα των HDL σωματιδίων αποτελεί μικρό μόνο ποσοστό της συνολικής ενζυμικής ενεργότητας του πλάσματος(322), μελέτες έδειξαν ότι η ικανότητα της HDL να προστατεύει την LDL από την οξείδωση(323), καθώς και να μειώνει τη βιολογική δραστηριότητα της ήδη οξειδωμένης LDL(324) οφείλεται σε πολύ μεγάλο βαθμό στην ιδιότητά της να υδρολύει τον PAF και τα οξειδωμένα φωσφολιπίδια.

Μελέτες σε υγιή άτομα έδειξαν ότι η ενεργότητα της LpPLA₂ του πλάσματος αυξάνεται προοδευτικά με την πάροδο της ηλικίας και ότι οι άνδρες εμφανίζουν σημαντικά υψηλότερη ενεργότητα του ενζύμου σε σύγκριση με τις γυναίκες της ίδιας ηλικιακής ομάδας(325-327). Αυτές οι διαφορές μεταξύ των δύο φύλων, οι οποίες αποδίδονται στην κατασταλτική επίδραση των οιστρογόνων στην παραγωγή του ενζύμου(328), τείνουν να εξαλειφθούν μετά την ηλικία των 50 ετών. Στις περισσότερες μελέτες η ενεργότητα του ενζύμου στο πλάσμα εμφάνιζε θετική συσχέτιση με τα επίπεδα της ολικής και LDL-C, καθώς και με τις συγκεντρώσεις της apoB(326, 329-331). Περίπου το 60% της διακύμανσης της ενεργότητας της Lp-PLA₂ που παρατηρείται σε υγιή άτομα οφείλεται σε γενετικούς παράγοντες(329).

Σε μια ανάλυση των αποτελεσμάτων της μελέτης WOSCOPS (West of Scotland Coronary Prevention Study)(332) συμμετείχαν 508 μέσης ηλικίας άνδρες με υπερχοληστερολαιμία οι οποίοι εμφάνισαν ΣΝ σε μια περίοδο παρακολούθησης 4.9 ετών και οι οποίοι συγκρίθηκαν με 1160 υγιείς μάρτυρες. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης, η κατά μία σταθερή απόκλιση αύξηση της συγκέντρωσης της LpPLA₂ συσχετιζονταν με κατά 18% μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης ΣΝ.

Τα αποτελέσματα μιας υποανάλυσης της μελέτης ARIC (Atherosclerosis Risk in Communities)(333) με 608 άνδρες και γυναίκες που εμφάνισαν ΣΝ και 740 άτομα ίδιας ηλικίας και φύλου χωρίς ΣΝ, οι οποίοι παρακολουθήθηκαν για 6-8 έτη, έδειξαν ότι τα άτομα με την υψηλότερη συγκέντρωση της Lp-PLA₂ είχαν ένα κατά 78% μεγαλύτερο κίνδυνο για την εμφάνιση ΣΝ σε σύγκριση με τα άτομα που είχαν συγκέντρωση Lp-PLA₂ στα χαμηλότερα επίπεδα. Πρέπει να επισημανθεί το εύρημα ότι σε άτομα με LDL-C<130 mg/dL, τα επίπεδα της LpPLA₂ συσχετιζονταν σημαντικά και ανεξάρτητα με διπλάσιο κίνδυνο για την εμφάνιση ΣΝ.

Στη μελέτη MONICA (MONitoring of trends and determinants In Cardiovascular Disease) συμμετείχαν 934 υγιείς άνδρες μέσης ηλικίας με μέτρια υπερχοληστερολαιμία. Η διάρκεια παρακολούθησης ήταν 14 χρόνια(334). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης, η κατά μία σταθερή απόκλιση αύξηση της συγκέντρωσης της LpPLA₂ συσχετιζονταν, ανεξάρτητα από τους κλασικούς παράγοντες κινδύνου, με ένα κατά 28% μεγαλύτερο κίνδυνο για την εμφάνιση ΣΝ.

Επιπρόσθετες ενδείξεις για τη συσχέτιση μεταξύ της ενεργότητας ή της μάζας του ενζύμου και της ΚΝ παρέχονται και από πιο πρόσφατες μελέτες(335-338). Σύμφωνα με πρόσφατα δεδομένα τα αυξημένα επίπεδα της ενεργότητας της Lp-PLA₂

συνδέονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών συμβαμάτων σε ασθενείς με σταθερή ΣΝ, αλλά η μείωσή τους με τη χορήγηση του αναστολέα της Lp-PLA₂ darapladib δεν μείωσε τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών συμβαμάτων(339-345).

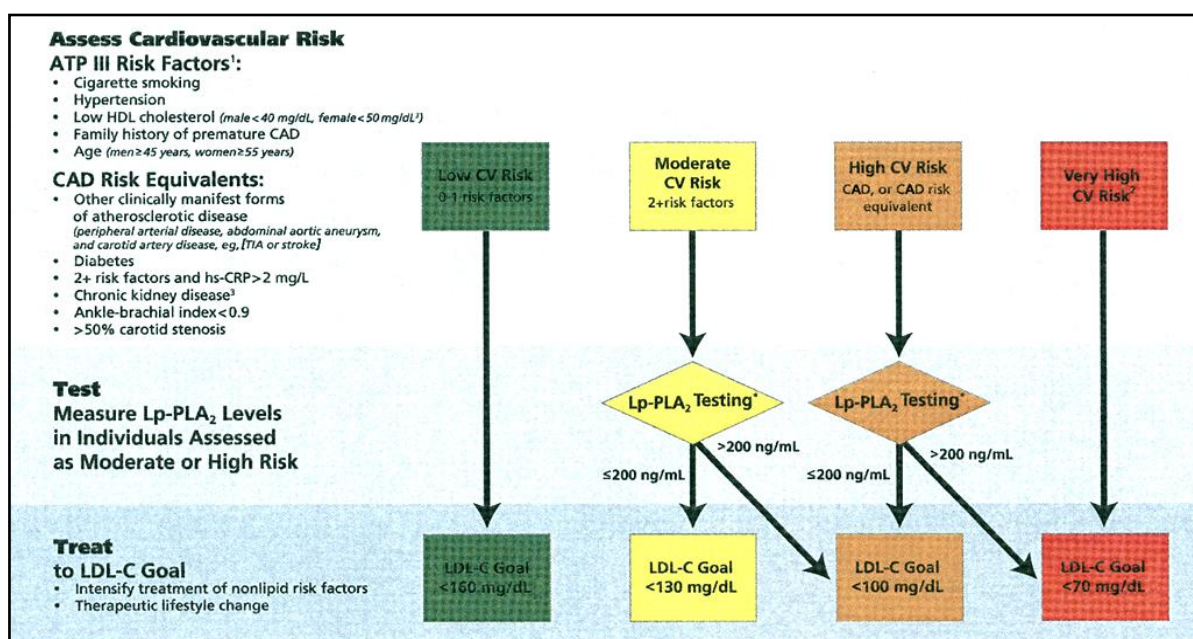
Η συσχέτιση της Lp-PLA₂ με την εμφάνιση αγγειακής εγκεφαλικής νόσου έχει εκτιμηθεί σε αρκετές μελέτες. Η μελέτη Rotterdam(335) έδειξε ότι οι ασθενείς με τα υψηλότερα επίπεδα ενεργότητας Lp-PLA₂ είχαν ένα κατά 97% μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης ΑΕΕ σε σύγκριση με τους ασθενείς με τα χαμηλότερα επίπεδα ενεργότητας του ενζύμου, ενώ η αύξηση της ενεργότητας κατά μία σταθερή απόκλιση συσχετιζόταν με ένα κατά 27% μεγαλύτερο κίνδυνο για την εμφάνιση ΑΕΕ. Παρόμοια ήταν και τα αποτελέσματα της μελέτης ARIC(346).

Τέλος, μια πρόσφατη μετα-ανάλυση(347) των αποτελεσμάτων 14 μελετών (περίπου 20.500 ασθενείς) έδειξε ότι υπάρχει σημαντική συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης της LpPLA₂ και του κινδύνου εμφάνισης ΚΝ. Συγκεκριμένα, η αύξηση των επιπέδων του ενζύμου - ανεξάρτητα από τους κλασικούς παράγοντες κινδύνου- οδηγεί σε ένα κατά 60% αυξημένο κίνδυνο για την εμφάνιση ΚΝ.

Ένα πρόβλημα που έχει ανακύψει στη βιβλιογραφία είναι ότι δεν υπάρχει μία ενιαία μέθοδος εκτίμησης της LpPLA₂. Έτσι, υπάρχουν μελέτες που χρησιμοποιούν την ενεργότητα και μελέτες που χρησιμοποιούν τη μάζα του ενζύμου, ενώ η συσχέτιση μεταξύ αυτών των δύο παραμέτρων είναι σχετικά χαμηλή ($r=0.36$)(321).

Ωστόσο, πολύ πρόσφατα η συγκέντρωση της LpPLA₂ συμπεριλήφθηκε στις κατευθυντήριες οδηγίες για τον καθορισμό του καρδιαγγειακού κινδύνου, κυρίως σε ασθενείς μέτριου ή και υψηλού κινδύνου για την εμφάνιση ΚΝ(348). Οι οδηγίες αυτές (εικόνα 11) βασίστηκαν στις κατευθυντήριες οδηγίες του NCEP-ATPIII για την

εκτίμηση του καρδιαγγειακού κινδύνου. Η παρουσία υψηλών συγκεντρώσεων LpPLA₂ (>200 ng/mL) έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση του εκτιμώμενου 10ετή κινδύνου εμφάνισης ΚΝ, δηλαδή τη μετατόπιση από μέτριου κινδύνου σε υψηλού κινδύνου και από υψηλού κινδύνου σε πολύ υψηλού κινδύνου, αντίστοιχα.



Εικόνα 11. Πρόσφατες οδηγίες για την χρησιμοποίηση των επιπέδων της LpPLA₂

στην εκτίμηση του κινδύνου εμφάνισης ΚΝ

5.4 ΑΠΟΛΙΠΟΠΡΩΤΕΪΝΗ C-II ΚΑΙ C-III

Η απολιποπρωτεΐνη C-II (apoC-II) αποτελεί συστατικό των χυλομικρών, των VLDL, των LDL, και των HDL σωματιδίων(349). Η apoC-II παράγεται κυρίως στο ήπαρ και σε μικρότερο βαθμό στο λεπτό έντερο(350-352). Η apoC-II σε νορμολιπιδαιμικά άτομα και σε συγκέντρωση περίπου 4 mg/dL ενεργοποιεί την LPL(353, 354). Αντίθετα, τόσο τα υψηλά επίπεδα στο πλάσμα όσο και η ανεπάρκεια της apoC-II συσχετίζονται με μειωμένη ενεργότητα της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης, που έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση των επιπέδων των τριγλυκεριδίων(355-357). Επιπρόσθετα, η αυξημένη συγκέντρωση της apoC-II, εκτός από την αύξηση των πλούσιων σε τριγλυκερίδια λιποπρωτεϊνών, συσχετίζεται και με μεταβολές της κατανομής των HDL σωματιδίων. Πιο συγκεκριμένα, οι υψηλές συγκεντρώσεις συσχετίζονται με αύξηση των επιπέδων της pre-beta1-HDL και των HDL3b and HDL3a σωματιδίων, ενώ αντίθετα παρατηρείται μείωση των μεγάλων HDL2a and HDL2b σωματιδίων(358).

Η apoC-II εκφράζεται σε αθηροσκληρωτικές πλάκες, όπου εντοπίζεται κοντά σε μακροφάγα και σχηματίζει ινίδια αμυλοειδούς(359). Αυτά τα ινίδια αμυλοειδούς έχουν φλεγμονώδεις ιδιότητες και πιθανά συμμετέχουν στη διαδικασία της αθηροσκλήρωσης(360).

Σε μία μελέτη ασθενών-μαρτύρων, η οποία συμπεριέλαβε 353 ασθενείς με ΣΝ και 395 άτομα ως ομάδα ελέγχου, τα επίπεδα της apoC-II ήταν σημαντικά υψηλότερα στους ασθενείς ($p < 0.001$)(361).

Η απολιποπρωτεΐνη C-III (apoC-III) είναι μία γλυκοπρωτεΐνη μάζας 8,8 kDa, η οποία εκκρίνεται κυρίως από το ήπαρ και σε μικρότερο βαθμό από το λεπτό έντερο(362).

Η apoC-III αποτελεί συστατικό των πλούσιων σε τριγλυκερίδια λιποπρωτεϊνών και των HDL και ανταλλάσσεται ελεύθερα μεταξύ των λιποπρωτεϊνών(349). Η apoC-III

αποτελεί σημαντικό ρυθμιστή του μεταβολισμού των λιποπρωτεϊνών. Πιο συγκεκριμένα, η apoC-III επηρεάζει τη λιπόλυση των πλούσιων σε τριγλυκερίδια λιποπρωτεϊνών διαμέσου της αναστολής της LPL και της μείωσης της πρόσληψης των πλούσιων σε τριγλυκερίδια λιποπρωτεϊνικών σωματιδίων από τους ηπατικούς υποδοχείς(363, 364).

Τα επίπεδα της apoC-II και της apoC-III αποτελούν προγνωστικούς παράγοντες για την εμφάνιση ΚΝ σε ασθενείς με ΣΝ ή ΣΔ2(365-368). Οι Sacks και συνεργάτες, σε μία ανάλυση στην οποία συμμετείχαν 418 ασθενείς με OEM ή πέθαναν από ΣΝ από τη μελέτη Cholesterol and Recurrent Events (CARE) και 370 άτομα χωρίς ΚΝ ως ομάδα ελέγχου, έδειξαν ότι η apoC-III των VLDL και LDL σωματιδίων ήταν ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας για την εμφάνιση ΚΝ(369).

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Σκοπός της μελέτης ήταν να εκτιμηθεί εάν ο σταθερός συνδυασμός βαλσαρτάνης / υδροχλωροθειαζίδης (160/12,5 mg) υπερέχει έναντι του συνδυασμού βαλσαρτάνης / αμλοδιπίνης (160/5 mg) όσον αφορά τη ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης και την επίδραση στις μεταβολικές παραμέτρους.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

6.1 Υλικά και μέθοδοι

6.1.1 Κριτήρια εισαγωγής στη μελέτη

Στη μελέτη συμμετείχαν ασθενείς ηλικίας > 18 ετών με ιδιοπαθή αρτηριακή υπέρταση πρώτου ή δευτέρου σταδίου [σύμφωνα με τις οδηγίες της Ευρωπαϊκής Εταιρίας Υπέρτασης (European Society of Hypertension - ESH) και της Ευρωπαϊκής Εταιρίας Καρδιολογίας (European Society of Cardiology - ESC) του 2007 (ΣΑΠ 140-179 mmHg ή/και ΔΑΠ 90-109 mmHg)] που δεν έπαιρναν αντιυπερτασική φαρμακευτική αγωγή και οι οποίοι προσήλθαν στο Εξωτερικό Ιατρείο Διαταραχών του Μεταβολισμού των Λιπιδίων του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Ιωαννίνων, από το Δεκέμβριο του 2007 μέχρι το Σεπτέμβριο του 2009. Οι ασθενείς που συμμετείχαν στη μελέτη, αφού ενημερώθηκαν, έδωσαν γραπτή συγκατάθεση, ενώ το πρωτόκολλο της μελέτης εγκρίθηκε από την Επιστημονική Επιτροπή του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων.

6.1.2 Κριτήρια αποκλεισμού από τη μελέτη

Από τη μελέτη αποκλείστηκαν ασθενείς με: 1) ιστορικό ισχαιμικής καρδιοπάθειας ή άλλης αγγειακής νόσου, 2) διαταραχή της ηπατικής λειτουργίας (επίπεδα τρανσαμινασών υψηλότερα από το τριπλάσιο των ανώτερων φυσιολογικών τιμών και/ή ιστορικό χρόνιας ηπατικής νόσου, όπως κίρρωση ή κατάχρηση αλκοόλ), 3) διαταραχή της νεφρικής λειτουργίας (κρεατινίνη ορού >1.6 mg/dl, και/ή ιστορικό χρόνιας νεφρικής νόσου, όπως σπειραματονεφρίτιδα, χρόνια πυελονεφρίτιδα, αποφρακτική νεφροπάθεια ή πρωτεϊνουρία), 4) σακχαρώδη διαβήτη (είτε ο

ασθενής λάμβανε αντιδιαβητική αγωγή είτε είχε δύο τιμές γλυκόζης πλάσματος νηστείας >126 mg/dl), 5) δυσλειτουργία θυρεοειδούς (επίπεδα TSH >5.0 μU/L), 6) ύπαρξη οποιασδήποτε νόσου που θα μπορούσε να εμποδίσει την επιτυχή ολοκλήρωση της μελέτης του πρωτοκόλλου. Επίσης, κατά τη διάρκεια της μελέτης δεν έγιναν αλλαγές των υπολιπιδαιμικών φαρμάκων που έπαιρνε ο κάθε ασθενής πριν την ένταξη στη μελέτη.

6.1.3 Φαρμακευτική αγωγή

Οι ασθενείς που πληρούσαν τα κριτήρια ένταξης στη μελέτη τυχαιοποιήθηκαν στο σταθερό συνδυασμό 160 mg βαλσαρτάνης με 5 mg αμλοδιπίνης, ή στο σταθερό συνδυασμό 160 mg βαλσαρτάνης με 12,5 mg υδροχλωροθειαζίδης.

6.1.4 Διάρκεια της μελέτης

Πριν από την έναρξη της θεραπείας (χρόνος 0), καθώς και μετά από 16 εβδομάδες αγωγής (χρόνος 1), προσδιορίστηκαν οι κλινικές και μεταβολικές παράμετροι, που περιγράφονται στη συνέχεια.

6.1.5 Συμμόρφωση στη θεραπεία

Για τον έλεγχο της συμμόρφωσης στη θεραπεία έγινε καταμέτρηση των δισκίων που έλαβε ο κάθε ασθενής. Λήψη < 80% των δισκίων θεωρήθηκε ως ανεπαρκής συμμόρφωση στη θεραπεία. Τα δεδομένα των ασθενών με ανεπαρκή συμμόρφωση στη θεραπεία δεν συμπεριλήφθηκαν στην τελική ανάλυση.

6.1.6 Συλλογή δεδομένων

6.1.6.1 Ιστορικό

Σε κάθε επίσκεψη έγινε καταγραφή των παραγόντων κινδύνου για την εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου, όπως είναι η ηλικία, το κάπνισμα, το οικογενειακό ιστορικό πρώιμης καρδιαγγειακής νόσου, καθώς και το ατομικό αναμνηστικό δυσλιπιδαιμίας ή σακχαρώδη διαβήτη. Επιπρόσθετα, έγινε καταγραφή των φαρμάκων που έπαιρνε ο κάθε ασθενής πριν από την έναρξη χορήγησης των φαρμακευτικών συνδυασμών της μελέτης.

6.1.6.2 Αντικειμενική εξέταση

Σε κάθε επίσκεψη μετρήθηκε το βάρος και το ύψος και στη συνέχεια υπολογίστηκε ο BMI [βάρος / (ύψος x ύψος), σε kg/m²] για κάθε ασθενή. Παράλληλα, μετρήθηκε η περιφέρεια της μέσης, καθώς και η αρτηριακή πίεση σε καθιστή θέση (μέσος όρος 2 μετρήσεων με διαφορά 5 λεπτών μεταξύ των μετρήσεων).

6.1.6.3 Εργαστηριακός έλεγχος

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

Για τον προσδιορισμό της ουρίας του ορού χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της γλουταμικής αφυδρογονάσης, ενώ για τον προσδιορισμό των επιπέδων της SCr η τροποποιημένη μέθοδος Jaffe. Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης των ολικών λευκωμάτων (TPR) και της αλβουμίνης (Alb) του ορού έγινε με βάση τη μέθοδο Biuret και bromocresol green αντίστοιχα. Από την αφαίρεση της συγκέντρωσης της αλβουμίνης του ορού από την αντίστοιχη των TPR προέκυψε η συγκέντρωση των σφαιρινών (globulins) του ορού.

Ο προσδιορισμός της γλυκόζης και των λιπιδαιμικών παραμέτρων του ορού έγινε σε αυτόματο αναλυτή OLYMPUS AU 640 (Olympus Diagnostica, Hamburg, Germany). Η

γλυκόζη προσδιορίσθηκε με τη μέθοδο της εξοκινάσης: παρουσία εξοκινάσης και ATP, η γλυκόζη μετατρέπεται αρχικά σε 6-P-γλυκόζη και στη συνέχεια παρουσία αφυδρογονάσης της 6-P-γλυκόζης και NADP^+ σε 6-P-γλυκονικό. Μετρήθηκε αύξηση της απορρόφησης στα 340nm (NADH).

Η ολική χοληστερόλη και τα τριγλυκερίδια στο πλάσμα προσδιορίσθηκαν με ενζυματικές μεθόδους. Για τον προσδιορισμό της ολικής χοληστερόλης αρχικά το ποσοστό της χοληστερόλης που είναι εστεροποιημένο υδρολύεται σε ελεύθερη χοληστερόλη και λιπαρά οξέα και στη συνέχεια η ολική χοληστερόλη μετατρέπεται σε χολεστερόνη και υπεροξειδίο, το οποίο μετράται ποσοτικά με το σχηματισμό χρωμογόνου στα 510nm. Για τη μέτρηση των τριγλυκεριδίων γίνεται καταρχήν υδρόλυση τους σε γλυκερόλη και λιπαρά οξέα και στη συνέχεια ποσοτικός προσδιορισμός της γλυκερόλης σε τρία στάδια.

Ο προσδιορισμός της HDL-C έγινε με ενζυματική μέθοδο (όπως η ολική χοληστερόλη) μετά από δέσμευση των LDL, VLDL και των χυλομικρών με αντισώματα κατά των β-λιποπρωτεϊνών.

Η τιμή της LDL χοληστερόλης υπολογίσθηκε από τον τύπο του Friedewald:

$$\text{LDL-C} = \text{ολική χοληστερόλη} - (\text{HDL-C} + \text{τριγλυκερίδια}/5)$$

σε δείγματα τα οποία συλλέχθηκαν μετά από 12ωρη νηστεία και η τιμή των τριγλυκεριδίων ήταν <400 mg/dL.

Ο προσδιορισμός των τιμών των apoA-I, apoB, apoE, και της Lp(a) στον ορό έγινε με ανοσονεφελομετρία σε νεφελόμετρο PROSPECT (Dade Behring, Liederbach, Germany) χρησιμοποιώντας ειδικά αντισώματα για κάθε απολιποπρωτεΐνη.

Η ινσουλίνη προσδιορίσθηκε με ανοσοενζυμική μέθοδο με φθορίζον προϊόν, η οποία χρησιμοποιεί την τεχνική των μικροσωματιδίων (Microparticle Enzyme Immunoassay,

ABBOTT GmbH Diagnostika, Wiesbaden-Delkenheim, Germany). Ο δείκτης HOMA υπολογίσθηκε ως εξής:

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

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

Για τον έλεγχο της ακρίβειας και της αξιοπιστίας των μεθόδων προσδιορισμού (εσωτερικός ποιοτικός έλεγχος) χρησιμοποιήθηκαν οι οροί ελέγχου Decision® (Levels 1,2,3) της Beckman (Fullerton, CA).

6.1.6.4 ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΤΩΝ ΛΙΠΟΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΥΨΗΛΗΣ ΠΥΚΝΟΤΗΤΑΣ ΑΠΟ ΠΛΗΡΕΣ ΠΛΑΣΜΑ

6.1.6.4.1 Αρχή της μεθόδου

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

6.1.6.4.2 Υλικά και όργανα

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

6.1.6.4.3 Πειραματική πορεία

500 μ l πλάσματος αναμιγνύονται με 50 μ l αντιδραστηρίου καταβύθισης. Το διάλυμα που προκύπτει αναδεύεται ισχυρά με vortex και αφού παραμείνει για 5

min σε θερμοκρασία δωματίου φυγοκεντρείται σε φυγόκεντρο πάγκου για 5 min στις 1500 rpm. Η φυγοκέντρωση οδηγεί σε καταβύθιση των λιποπρωτεϊνών που περιέχουν apoB και έτσι οι HDL απομονώνονται στο υπερκείμενο, το οποίο αναρροφάται προσεκτικά με αυτόματη πιπέτα.

6.1.6.5 ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΥΠΟΚΛΑΣΜΑΤΩΝ ΤΩΝ LDL ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ LIPOPRINT LDL SYSTEM

6.1.6.5.1 Αρχή της μεθόδου

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

6.1.6.5.2 Υλικά και όργανα

Κάθε kit των 100 δειγμάτων περιλαμβάνει:

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

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

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

6.1.6.5.3 Πειραματική πορεία

25 μL δείγματος (ορός ή πλάσμα) αναμειγνύεται με 200 μL loading gel και τοποθετείται προσεκτικά με αυτόματη πιπέτα στο άνω μέρος του φιαλιδίου που περιέχει γέλη πολυακρυλαμιδίου 3%. Στη συνέχεια, τα δείγματα φωτοπολυμερίζονται για 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Μετά το πέρας του φωτοπολυμερισμού, τα σωληνάρια τοποθετούνται στο θάλαμο ηλεκτροφόρησης και η ηλεκτροφόρηση πραγματοποιείται για 60 λεπτά με ένταση ρεύματος 3 mA για

κάθε σωληνάκι. Ο θάλαμος ηλεκτροφόρησης περιέχει 12 θέσεις ηλεκτροφόρησης. Κατά τη διάρκεια κάθε κύκλου τοποθετούνται -εκτός από τα δείγματα για μέτρηση- και δύο σωληνάκια με δείγμα που παρέχεται από τον κατασκευαστή για τον έλεγχο της ποιότητας. Για την ποσοτικοποίηση, χρησιμοποιείται ψηφιακό scanner (ScanMaker 8700, Mikrotek Co, USA) και προσωπικός υπολογιστής iMac (Apple Computer Inc, USA) με το κατάλληλο λογισμικό. Μετά το scanning, η ηλεκτροφορητική κινητικότητα (R_f , rate fractional) και η περιοχή κάτω από την καμπύλη (area under the curve, AUC) υπολογίζονται ποιοτικά και ποσοτικά με τη χρήση του Lipoprint LDL system Template και το λογισμικό Lipoware (Quantimetrix Co, Redondo Beach, CA), αντίστοιχα. Σύμφωνα με τη μέθοδο, οι VLDL παραμένουν στην αρχή ($R_f=0$), ενώ οι HDL μεταναστεύουν μπροστά ($R_f=1$). Τα υποκλάσματα των LDL υπολογίζονται χρησιμοποιώντας το R_f μεταξύ του κλάσματος των VLDL και του κλάσματος των HDL. Τα διάφορα υποκλάσματα των LDL κατανέμονται σε 7 μπάντες με R_f από 0.32 μέχρι R_f 0.64. Τα R_f των LDL υποκλασμάτων είναι 0.32, 0.38, 0.45, 0.51, 0.56, 0.60 και 0.64 (LDL1 έως LDL7, αντίστοιχα). Τα υποκλάσματα LDL1 και LDL2 ορίζονται ως μεγάλα, χαμηλής πυκνότητας LDL σωματίδια και τα υποκλάσματα LDL3 ως LDL7 ορίζονται ως sdLDL. Το περιεχόμενο σε χοληστερόλη κάθε LDL υποκλάσματος υπολογίζεται με πολλαπλασιασμό της AUC κάθε υποκλάσματος με τη συγκέντρωση της ολικής χοληστερόλης του δείγματος (η μέτρηση της συγκέντρωσης της ολικής χοληστερόλης του δείγματος γίνεται ανεξάρτητα). Το ποσοστό της χοληστερόλης των sdLDL (sdLDL-C %) ορίζεται ως το ποσοστό της LDL-C που βρίσκεται στα sdLDL σωματίδια (δηλαδή στις μπάντες 3 ως 7). Επιπρόσθετα, το Lipoprint LDL System παρέχει τη μέση διάμετρο των LDL σωματιδίων κάθε δείγματος σε nm και χρησιμοποιεί το όριο των 26.8 nm για το διαχωρισμό των

ασθενών σε δύο φαινοτύπους: φαινότυπος A (απουσία sdLDL σωματιδίων) και non-A (παρουσία sdLDL σωματιδίων). Τέλος, ανάλογα με το Rf της μεγαλύτερης μπάντας των LDL σωματιδίων κάθε δείγματος υπολογίσθηκε η μέγιστη διάμετρος των LDL σωματιδίων (LDL peak particle diameter, LDL-PPD) (nm) σύμφωνα με την εξίσωση, που έχει προταθεί από τους *Kazumi et al* (370):

$$\text{LDL-PPD} = (1.429 - R_f) * 25$$

6.1.6.5.4 Σημειώσεις

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

6.1.6.6 ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΥΠΟΚΛΑΣΜΑΤΩΝ ΤΩΝ HDL ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ LIPOPRINT HDL SYSTEM

6.1.6.6.1 Αρχή της μεθόδου

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

διαχωρισμού, διαχωρίζονται σε λιποπρωτεϊνικές μπάντες ανάλογα με το μέγεθος τους από το μεγαλύτερο στο μικρότερο.

6.1.6.6.2 Υλικά και όργανα

Κάθε kit των 100 δειγμάτων περιλαμβάνει:

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

Το Lipoprint System περιλαμβάνει:

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

6.1.6.6.3 Πειραματική πορεία

25 μL δείγματος (ορός ή πλάσμα) αναμειγνύεται με 300 μL loading gel και τοποθετείται προσεκτικά με αυτόματη πιπέτα στο άνω μέρος του φιαλιδίου που περιέχει γέλη πολυακρυλαμιδίου 3%. Στη συνέχεια, τα δείγματα φωτοπολυμερίζονται για 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Μετά το πέρας του φωτοπολυμερισμού, τα σωληνάκια τοποθετούνται στο θάλαμο ηλεκτροφόρησης και η ηλεκτροφόρηση πραγματοποιείται για 50 λεπτά με ένταση ρεύματος 3 mA για κάθε σωληνάκι. Ο θάλαμος ηλεκτροφόρησης περιέχει 12 θέσεις ηλεκτροφόρησης. Για την ποσοτικοποίηση, χρησιμοποιείται ψηφιακό scanner (ScanMaker 8700, Mikrotek Co, USA) και προσωπικός υπολογιστής iMac (Apple Computer Inc, USA) με το κατάλληλο λογισμικό. Μετά το scanning, η ηλεκτροφορητική κινητικότητα (R_f , rate fractional) και η περιοχή κάτω από την καμπύλη (area under the curve, AUC) υπολογίζονται ποιοτικά και ποσοτικά με τη χρήση του Lipoprint HDL system Template και το λογισμικό Lipoware (Quantimetrix Co, Redondo Beach, CA), αντίστοιχα. Σύμφωνα με τη μέθοδο, οι VLDL και οι LDL παραμένουν στην αρχή ($R_f = 0$), ενώ η αλβουμίνη μεταναστεύει μπροστά ($R_f = 1$). Τα υποκλάσματα των HDL υπολογίζονται χρησιμοποιώντας το R_f μεταξύ του κλάσματος των VLDL και LDL και του κλάσματος της αλβουμίνης. Τα διάφορα υποκλάσματα των HDL κατανέμονται σε 9 μπάντες με R_f από 0.05 μέχρι R_f 0.53. Τα R_f των HDL υποκλασμάτων είναι 0.05, 0.10, 0.15, 0.20, 0.25, 0.29, 0.38, 0.48 και 0.53 (HDL1 έως HDL9, αντίστοιχα). Τα υποκλάσματα HDL1, HDL2, HDL3 ορίζονται ως μεγάλα, χαμηλής πυκνότητας HDL σωματίδια, τα υποκλάσματα HDL4, HDL5, HDL6 ως μέσης πυκνότητας HDL σωματίδια και τα υποκλάσματα HDL7, HDL8, HDL9 ορίζονται ως μικρά, υψηλής πυκνότητας HDL σωματίδια. Το περιεχόμενο σε χοληστερόλη κάθε HDL υποκλάσματος υπολογίζεται με πολλαπλασιασμό της AUC κάθε υποκλάσματος με

τη συγκέντρωση της HDL-C του δείγματος (η μέτρηση της συγκέντρωσης της HDL-C του δείγματος γίνεται ανεξάρτητα).

6.1.6.6.4 Σημειώσεις

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

6.1.6.7 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΕΝΖΥΜΙΚΗΣ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ LpPLA₂

6.1.6.7.1 Αρχή της μεθόδου

Ο υπολογισμός της ενζυμικής ενεργότητας της LpPLA₂ βασίζεται στη μέτρηση των ραδιοσημασμένων οξικών ομάδων που απελευθερώνονται κατά την επίδραση του ενζύμου σε PAF, ο οποίος έχει προηγουμένως σημανθεί με ραδιενεργό τρίτιο στη θέση 2 του σκελετού της γλυκερόλης (³H-PAF). Οι οξικές ομάδες παραμένουν στο υπερκείμενο, μετά την καταβύθιση με TCA (trichloroacetic acid, τριχλωροξικό οξύ) του παραγόμενου lyso-PAF, καθώς και του (³H-PAF) που δεν διασπάστηκε 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 nmol του ραδιενεργού PAF που διασπάστηκαν από το ένζυμο στη μονάδα του χρόνου από μια συγκεκριμένη ποσότητα δείγματος.

6.1.6.7.2 Υλικά και όργανα

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

6.1.6.7.3 Διαλύματα εργασίας

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

6.1.6.7.4 Πειραματική πορεία

Για τη μέτρηση της ενεργότητας της LpPLA₂ χρησιμοποιούνται συνήθως 50 μL πλάσματος ή απομονωμένης HDL (αραιωμένα 1/50 v/v και 1/3 v/v, αντίστοιχα με Herpes pH 7.4). Για τη μέτρηση της ενζυμικής ενεργότητας των λιποπρωτεϊνικών υποκλασμάτων χρησιμοποιείται συνήθως τέτοιος όγκος δείγματος ώστε να περιέχει 4 μg πρωτεΐνης του υποκλάσματος. Σε κάθε περίπτωση τα δείγματα τοποθετούνται σε πλαστικό σωληνάκι erpendorf και ο όγκος συμπληρώνεται με Herpes pH 7.4 μέχρι τα 90 μL. Στη συνέχεια προστίθενται 10 μL (³H-PAF) 100 μM και τα δείγματα, αφού αναδευθούν ήπια, τοποθετούνται σε υδατόλουτρο όπου επωάζονται για 10 λεπτά στους 37°C. Στο τέλος αυτού του χρονικού διαστήματος η αντίδραση της LpPLA₂ με το υπόστρωμα τερματίζεται με την προσθήκη 20 μL BSA 100 mg/mL (η οποία δεσμεύει την περίσσεια του PAF που δεν αντέδρασε, καθώς και το lyso-PAF) και την τοποθέτηση των δειγμάτων, αφού αναδευθούν ισχυρά με vortex, σε πάγο για 15 λεπτά. Τέλος, αφού προστεθούν 80 μL TCA 20% τα δείγματα αναδεύονται και πάλι με vortex και τοποθετούνται σε πάγο για άλλα 30 λεπτά. Στη συνέχεια τα σωληνάκια φυγοκεντρώνονται σε μικροφυγόκεντρο για erpendorfs (5 λεπτά στις 10.000 rpm) προκειμένου να καταβυθιστούν οι πρωτεΐνες. 100 μL από το υπερκείμενο που προκύπτει μετά την καταβύθιση τοποθετούνται σε ειδικό σωληνάκι μαζί με 2 mL υγρού σπινθηρισμού και αφού αναδευθούν ισχυρά μεταφέρονται στο μετρητή σπινθηρισμού για μέτρηση της β ακτινοβολίας που εκπέμπουν. Ίδια πειραματική διαδικασία με αυτή που ακολουθείται στα προς μέτρηση δείγματα εφαρμόζεται και για δύο σωληνάκια τα οποία περιέχουν 90 μL Herpes. Ο μέσος όρος των κρούσεων που αποδίδουν αυτά τα σωληνάκια αντιστοιχεί

στο τυφλό (δείγμα ελέγχου) της μέτρησης και χρησιμοποιείται κατά τη μετατροπή των κρούσεων των δειγμάτων σε ενζυμική ενεργότητα. Επιπρόσθετα, μαζί με τα δείγματα τοποθετούνται στο μετρητή σπινθηρισμού και δύο σωληνάκια τα οποία περιέχουν υγρό σπινθηρισμού, καθώς και 10 μL ($^3\text{H-PAF}$) 100 μM . Το πηλίκο του μέσου όρου των κρούσεων που προέρχονται από αυτά τα σωληνάκια (standard) διά του αριθμού των ημολ ($^3\text{H-PAF}$) 100 μM που περιέχονται στο καθένα αποτελούν την ειδική ενεργότητα (E.E) του διαλύματος του PAF, δηλαδή των αριθμό των κρούσεων που αποδίδει κάθε ημολ ($^3\text{H-PAF}$) 100 μM στις συγκεκριμένες πειραματικές συνθήκες. Η ενεργότητα της Lp-PLA₂ εκφράζεται ως ημολ του ραδιενεργού PAF που διασπάται στη μονάδα του χρόνου (λεπτά) από μία δεδομένη ποσότητα δείγματος και υπολογίζεται από τον παρακάτω γενικό τύπο:

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

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

cpm_τ είναι οι κρούσεις που αποδίδουν τα 100 μL τυφλού

E.E είναι η ειδική ενεργότητα του διαλύματος του ($^3\text{H-PAF}$) 100 μM
(standard/10)

α είναι ο χρόνος επώασης του δείγματος σε λεπτά

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

6.1.6.8 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ APOC-II

Για τον προσδιορισμό της apoC-II χρησιμοποιήθηκε εμπορικό κιτ της εταιρείας Kamiya (Cat. No. KAI-005), το οποίο προσδιορίζει τη συγκέντρωση της apoC-II στον ορό με immunoturbidimetric μέθοδο.

6.1.6.8.1 Αρχή της μεθόδου

Όταν ο ορός του ασθενούς αναμιγνύεται με ορό που περιέχει αντίσωμα για την apoC-II προκαλείται συγκόλληση εξαιτίας της αλληλεπίδρασης αντιγόνου-αντισώματος. Η απορρόφηση προσδιορίζεται στα 450 nm και στη συνέχεια υπολογίζεται ποσοτικά η συγκέντρωση της apoC-II στον ορό.

6.1.6.8.2 Περιεχόμενα του κιτ

- α) Αντιδραστήρια (Liquid Stable)
- β) R1: Buffer Reagent 3 x 20 mL
- γ) Tris(hydroxymethyl)aminomethane
- δ) R2: Antiserum Reagent 1 x 20 mL
- ε) Anti-human Apolipoprotein CII goat antiserum

Υλικά που δεν παρέχονται με το κιτ:

- α) Calibrators: K-ASSAY
- β) apoA-II/C-II/C-III Calibrator, Cat. No. KAI-041C
- γ) αποσταγμένο νερό
- δ) αυτόματος αναλυτής διπλού αντιδραστηρίου (two-reagent automated chemistry analyser), ικανός για ακριβή μέτρηση της απορρόφησης στα 450 nm και διατήρηση της θερμοκρασίας στους 37°C.

6.1.6.8.3 Περιγραφή της διαδικασίας

Το κιτ είναι κατάλληλο για χρήση σε αυτόματους αναλυτές διπλού αντιδραστηρίου (two-reagent automated chemistry analysers).

Ένα παράδειγμα της αυτοματοποιημένης διαδικασίας (αναλυτής Hitachi 717):

ορός 4 µL



R1 (Buffer Reagent) 300 µL

Αναμονή για 5 min στους 37°C.



R2 (Antiserum Reagent) 100 µL

Αναμονή για 5 min στους 37°C.



μέτρηση στα 450 nm

Στον αυτόματο αναλυτή πρέπει να εισαχθούν οι εξής παράμετροι:

Όργανο: Hitachi 717

Θερμοκρασία: 37°C

TEST (APOC2)

ASSAY CODE (2 POINT) : (24) - (50)

SAMPLE VOLUME (4) ()

R1 VOLUME (300) () (NO)

R2 VOLUME (100) () (NO)

WAVELENGTH () (450)

CALIB. METHOD (NONLINEAR) (1) (6)

STD.(1) Conc.-POS. (*1) - (1)

STD.(2) Conc.-POS. (*2) - (2)

STD.(3) Conc.-POS. (*3) - (3)

STD.(4) Conc.-POS. (*4) - (4)

STD.(5) Conc.-POS. (*5) - (5)

STD.(6) Conc.-POS. (*6) - (6)

SD LIMIT (999)

DUPLICATE LIMIT (10000)

SENSITIVITY LIMIT (0)

ABS. LIMIT (SLOPE) (32000) (INCREASE)

PROZONE LIMIT (-32000) (LOWER)

EXPECTED VALUE (-99999) (99999)

PANIC VALUE (-99999) (99999)

INSTRUMENT FACTOR (1.00)

*1-6 Οι συγκεντρώσεις των calibrators .

Στην περίπτωση που η συγκέντρωση της αρoC-II είναι υψηλότερη από την τιμή του μεγαλύτερου σε συγκέντρωση calibrator, αραιώνουμε 1 μέρος του ορού με 4 μέρη ισότονου ορού και επαναλαμβάνουμε τη μέτρηση, πολλαπλασιάζοντας x5 την τελική τιμή.

6.1.6.8.4 Ευαισθησία, ειδικότητα και επαναληψιμότητα της μεθόδου

Όταν χρησιμοποιείται φυσιολογικός ορός ως δείγμα η απορρόφηση είναι <0.200 nm.

Όταν χρησιμοποιείται calibrator με συγκέντρωση apoC-II περίπου 4 mg/dL η απορρόφηση είναι 0.010-0.100 nm.

Όταν χρησιμοποιείται δείγμα ελέγχου το αποτέλεσμα είναι μεταξύ $\pm 10\%$ από την αναμενόμενη τιμή.

Όταν ένα δείγμα με συγκέντρωση apoC-II περίπου 4 mg/dL προσδιορίζεται 20 φορές η απορρόφηση έχει C.V. $<5\%$.

Εύρος τιμών της μεθόδου: 1-15 mg/dL.

6.1.6.8.5 Σημειώσεις

Τα αντιδραστήρια δεν πρέπει να αναμιγνύονται με αντίστοιχα από κιτ με διαφορετικό αριθμό παρτίδας.

Τα αντιδραστήρια είναι έτοιμα προς χρήση και δε χρειάζονται ανασύσταση.

Τα αντιδραστήρια διατηρούνται στο ψυγείο σε θερμοκρασία 2-8 °C. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν μέχρι 1 μήνα μετά το άνοιγμα.

Για την αποθήκευση του ορού πρέπει να χρησιμοποιείται πλαστικό και όχι γυάλινο φιαλίδιο.

Όλα τα αντιδραστήρια και τα δείγματα πρέπει να βρίσκονται σε θερμοκρασία δωματίου πριν τη χρήση.

6.1.6.9 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ APOC-III

Για τον προσδιορισμό της apoC-III χρησιμοποιήθηκε εμπορικό κιτ της εταιρείας Kamiya (Cat. No. KAI-006), το οποίο προσδιορίζει ποσοτικά τη συγκέντρωση της apoC-III στον ορό με immunoturbidimetric μέθοδο.

6.1.6.9.1 Αρχή της μεθόδου

Όταν ο ορός του ασθενούς αναμιγνύεται με ορό που περιέχει αντίσωμα για την apoC-III προκαλείται συγκόλληση εξαιτίας της αλληλεπίδρασης αντιγόνου-αντισώματος. Η απορρόφηση προσδιορίζεται στα 600 nm και στη συνέχεια υπολογίζεται η συγκέντρωση της apoC-III στον ορό.

6.1.6.9.2 Περιεχόμενα του κιτ

- α) Αντιδραστήρια (Liquid Stable)
- β) R1: Buffer Reagent 3 x 20 mL
- γ) Tris(hydroxymethyl)aminomethane
- δ) R2: Antiserum Reagent 1 x 20 mL
- ε) Anti-human Apolipoprotein CIII goat antiserum

Υλικά που δεν παρέχονται με το κιτ

- α) Calibrators: K-ASSAY
- β) apoA-II/C-II/C-III Calibrator, Cat. No. KAI-041C
- γ) αποσταγμένο νερό
- δ) αυτόματος αναλυτής διπλού αντιδραστηρίου (two-reagent automated chemistry analyser), ικανός για ακριβή μέτρηση της απορρόφησης στα 450 nm και διατήρηση της θερμοκρασίας στους 37°C.

6.1.6.9.3 Περιγραφή της διαδικασίας

Το κιτ είναι κατάλληλο για χρήση σε αυτόματους αναλυτές διπλού αντιδραστηρίου (two-reagent automated chemistry analysers).

Ένα παράδειγμα της αυτοματοποιημένης διαδικασίας (αναλυτής Hitachi 717):

ορός 4 µL



R1 (Buffer Reagent) 300 µL

Αναμονή για 5 min στους 37°C.



R2 (Antiserum Reagent) 100 µL

Αναμονή για 5 min στους 37°C.



μέτρηση στα 600 nm

Στον αυτόματο αναλυτή εισάγονται οι παρακάτω παράμετροι:

Όργανο: Hitachi 717

Θερμοκρασία: 37°C

TEST (Apo C3)

ASSAY CODE (2 POINT) : (24) - (50)

SAMPLE VOLUME (4) ()

R1 VOLUME (300) () (NO)

R2 VOLUME (100) () (NO)

WAVELENGTH () (600)

CALIB. METHOD (NONLINEAR) (1) (6)

STD.(1) Conc.-POS. (*1) - (1)

STD.(2) Conc.-POS. (*2) - (2)

STD.(3) Conc.-POS. (*3) - (3)

STD.(4) Conc.-POS. (*4) - (4)

STD.(5) Conc.-POS. (*5) - (5)

STD.(6) Conc.-POS. (*6) - (6)

SD LIMIT (999)

DUPLICATE LIMIT (10000)

SENSITIVITY LIMIT (0)

ABS. LIMIT (SLOPE) (32000) (INCREASE)

PROZONE LIMIT (-32000) (LOWER)

EXPECTED

VALUE (-99999) (99999)

PANIC VALUE (-99999) (99999)

INSTRUMENT FACTOR (1.00)

*1-6 Οι συγκεντρώσεις των calibrators .

Στην περίπτωση που η συγκέντρωση της αρC-III είναι υψηλότερη από την τιμή του μεγαλύτερου σε συγκέντρωση calibrator, αραιώνουμε 1 μέρος του ορού με 4 μέρη ισότονου ορού και επαναλαμβάνουμε τη μέτρηση, πολλαπλασιάζοντας χ5 την τελική τιμή.

6.1.6.9.4 Ευαισθησία, ειδικότητα και επαναληψιμότητα της μεθόδου

Όταν χρησιμοποιείται φυσιολογικός ορός ως δείγμα η απορρόφησης είναι <0.200 nm. Όταν χρησιμοποιείται calibrator με συγκέντρωση apoC-III περίπου 4 mg/dL η απορρόφηση είναι 0.020-0.200.

Όταν χρησιμοποιείται δείγμα ελέγχου το αποτέλεσμα είναι μεταξύ $\pm 10\%$ από την αναμενόμενη τιμή.

Όταν ένα δείγμα με συγκέντρωση apoC-III περίπου 4 mg/dL προσδιορίζεται 20 φορές η απορρόφηση έχει C.V. $<5\%$.

Εύρος τιμών της μεθόδου: 3 - 30 mg/dL.

6.1.6.9.5 Σημειώσεις

Τα αντιδραστήρια δεν πρέπει να αναμιγνύονται με αντίστοιχα από κιτ με διαφορετικό αριθμό παρτίδας.

Τα αντιδραστήρια είναι έτοιμα προς χρήση και δε χρειάζονται ανασύσταση.

Τα αντιδραστήρια διατηρούνται στο ψυγείο σε θερμοκρασία 2-8 °C. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν μέχρι 1 μήνα μετά το άνοιγμα.

Για την αποθήκευση του ορού πρέπει να χρησιμοποιείται πλαστικό και όχι γυάλινο φιαλίδιο.

Όλα τα αντιδραστήρια και τα δείγματα πρέπει να βρίσκονται σε θερμοκρασία δωματίου πριν τη χρήση.

6.1.6.10 Εργαστηριακή εκτίμηση της πρωτεϊνουρίας και της κλασματικής απέκκρισης διαλυτών ουσιών στα ούρα

Ελήφθησαν δείγματα πρωινών ούρων, τα οποία αφού φυγοκεντρήθηκαν στις 3000 στροφές/min, αποθηκεύθηκαν στους -80°C μέχρι την ανάλυσή τους (η οποία έγινε μέσα σε 1 μήνα από τη συλλογή του τελευταίου δείγματος). Στο δείγμα των

πρωινών ούρων έγινε προσδιορισμός των επιπέδων της κρεατινίνης (UCr), των ολικών λευκωμάτων (UTpr), του ουρικού οξέος (UUA), καθώς και των ηλεκτρολυτών που προσδιορίστηκαν και στον ορό, με τη χρήση του αναλυτή κλινικής χημείας Olympus AU 600 (Olympus Diagnostica, Hamburg, Germany). Επιπρόσθετα, υπολογίστηκαν οι κλασματικές απεκκρίσεις όλων των ηλεκτρολυτών, καθώς και του ουρικού οξέος από την εξίσωση: $FEA (\%) = (UA/SA)/(UCr/SCr) \times 100$, όπου A ο ηλεκτρολύτης ή το ουρικό οξύ, UA τα επίπεδα των ηλεκτρολυτών ή του ουρικού οξέος στο δείγμα ούρων και SA τα επίπεδα αυτών των παραμέτρων στον ορό. Επιπλέον, σε δείγμα των πρωινών ούρων προσδιορίστηκαν τα επίπεδα της αλβουμίνης (UAlb), της α -1 μικροσφαιρίνης (Ua1m), καθώς και της ανοσοσφαιρίνης G (UIgG) με τη χρήση του νεφελόμετρου Behring Nephelometer BN ProSpec και αντιδραστηρίων και βαθμονομητών της Dade Behring Holding GmbH (Liederbach, Germany). Η νεφρική απέκκριση τόσο των ολικών λευκωμάτων όσο και των επιμέρους χαμηλού και υψηλού μοριακού βάρους πρωτεϊνών προσδιορίστηκε με βάση το πηλίκο της συγκέντρωσης της κάθε πρωτεΐνης στο πρωινό δείγμα ούρων προς τη συγκέντρωση της UCr του ίδιου δείγματος ούρων, δηλαδή με βάση τους λόγους: UTpr/UCr, UAlb/UCr, Ua1m/UCr και UIgG/UCr.

6.2 Στατιστική ανάλυση

Οι παράμετροι που μελετήθηκαν εκφράζονται ως μέση τιμή \pm σταθερά απόκλιση (SD), εφόσον ακολουθούσαν κανονική κατανομή (Gaussian distribution), καθώς και ως διάμεση τιμή (εύρος), εφόσον δεν ακολουθούσαν κανονική κατανομή (non-Gaussian distribution). Το test Kolmogorov-Smirnov χρησιμοποιήθηκε για τον έλεγχο της κανονικότητας των κατανομών. Οι μεταβολές των επιπέδων των διαφόρων παραμέτρων μετά από 16 εβδομάδες θεραπείας εκτιμήθηκαν με τη χρήση του

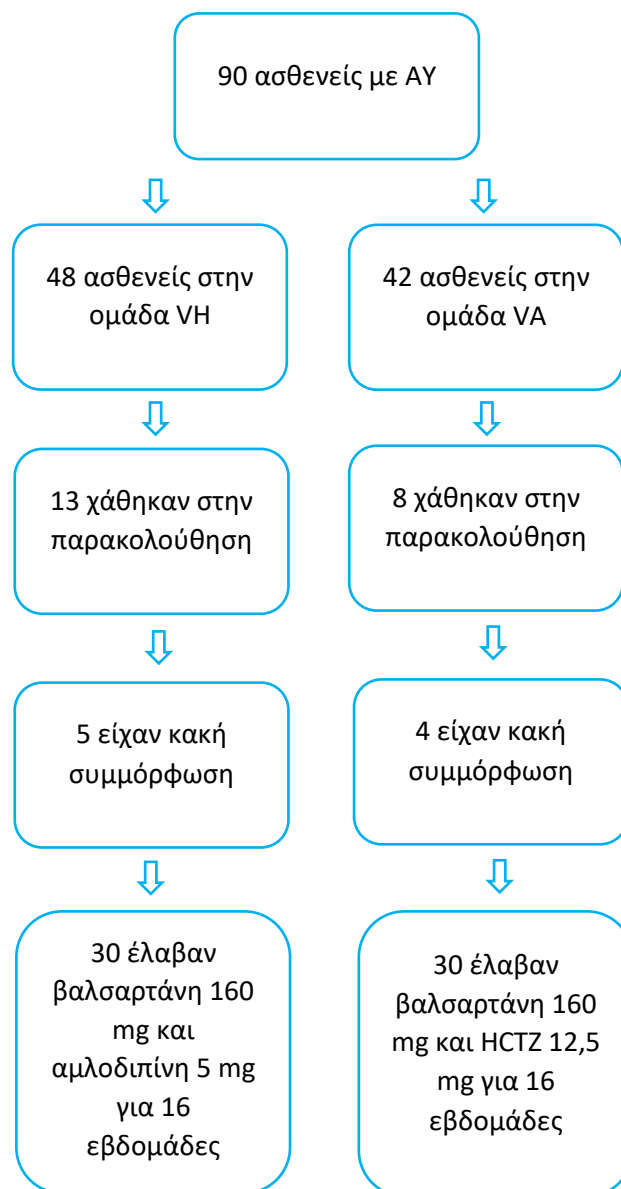
paired-samples t-test, για παραμέτρους που ακολουθούσαν κανονική κατανομή, καθώς και με τη χρήση του Wilcoxon's rank test για μεταβλητές που δεν ακολουθούσαν κανονική κατανομή. Η σύγκριση μεταξύ των μεταβολών των διαφόρων παραμέτρων (dependent variables) ανάμεσα στους 2 σταθερούς συνδυασμούς της μελέτης έγινε μετά από διόρθωση για τα αρχικά επίπεδα της κάθε παραμέτρου (covariate), με τη χρήση της ANCOVA (analysis of covariance).

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

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

7.1 Δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού της μελέτης

Στη μελέτη συμμετείχαν 90 ασθενείς (43 άντρες και 47 γυναίκες) με μέση ηλικία 57 ± 11 έτη. Από αυτούς τους ασθενείς 30 αποχώρησαν από τη μελέτη. Από τους υπόλοιπους 60 ασθενείς, 30 συμμετείχαν στην ομάδα VH και 30 στην ομάδα VA (Εικ. 12).



Εικόνα 12. Σχηματική περιγραφή του πληθυσμού της μελέτης

Τα δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά αυτών των ασθενών φαίνονται στον Πίνακα 8.

Πίνακας 8. Δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού της μελέτης		
Παράμετρος	Ομάδα VH (n=30)	Ομάδα VA (n=30)
Φύλο Άνδρες, n (%)	14 (47)	14 (47)
Γυναίκες, n (%)	16 (53)	16 (53)
Ηλικία, έτη	56±12	59±11
Περίμετρος μέσης, cm	96±9	95±11
BMI, kg/m ²	26,5±4,3	26,9±4,0
Καπνιστές (%)	7 (23,3)	6 (18,2)
Αρτηριακή πίεση, mmHg		
ΣΑΠ	155,00	154,31
ΔΑΠ	96,83	97,47
Συντομογραφίες: BMI = Δείκτης μάζας σώματος		

Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις 2 ομάδες όσον αφορά την ηλικία, το φύλο και τα κλινικά χαρακτηριστικά, όπως είναι η αρτηριακή πίεση, το σωματικό βάρος, ο BMI και η περίμετρος της μέσης. Επίσης, δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων όσον αφορά το ποσοστό των ατόμων που ήταν καπνιστές. Κατά τη διάρκεια της μελέτης δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές μεταβολές των κλινικών χαρακτηριστικών σε καμία από τις 2 ομάδες. Συγκεκριμένα, οι σωματομετρικές παράμετροι (σωματικό βάρος, BMI, περίμετρος της μέσης) δεν μεταβλήθηκαν σημαντικά σε καμία από τις 2 ομάδες.

7.2 Συμμόρφωση στη θεραπεία – Ανεπιθύμητες ενέργειες

Από τους 48 ασθενείς που εντάχθηκαν στην ομάδα VH συνολικά 18 αποχώρησαν από τη μελέτη (13 χάθηκαν στη διάρκεια της παρακολούθησης και 5 δεν είχαν επαρκή συμμόρφωση στη θεραπεία), ενώ από τους 42 ασθενείς που εντάχθηκαν στην ομάδα VA αποχώρησαν συνολικά 12 ασθενείς (8 χάθηκαν στη διάρκεια της παρακολούθησης και 4 δεν είχαν επαρκή συμμόρφωση στη θεραπεία). Κανένας από τους ασθενείς που ολοκλήρωσε την παρακολούθηση δεν εμφάνισε ανεπιθύμητες ενέργειες που θα επέβαλλαν τη διακοπή της θεραπείας.

7.3 Επίδραση των συνδυασμών VH και VA στα επίπεδα της ΑΠ

Στον Πίνακα 9 φαίνονται οι μεταβολές των επιπέδων της ΑΠ στις δύο ομάδες.

Η ΣΑΠ μειώθηκε κατά 16,3% στην ομάδα VH ($p < 0,001$) και κατά 14,6% στην ομάδα VA ($p < 0,001$) σε σύγκριση με τα αρχικά επίπεδα ΣΑΠ ($p =$ μη στατιστικά σημαντική διαφορά όσον αφορά τη σύγκριση των μεταβολών της ΣΑΠ μεταξύ των δύο ομάδων). Η ΔΑΠ μειώθηκε κατά 14,4% στην ομάδα VH ($p < 0,001$) και κατά 16,2% στην ομάδα VA ($p < 0,001$) σε σύγκριση με τα αρχικά επίπεδα ΔΑΠ ($p =$ μη στατιστικά σημαντική διαφορά όσον αφορά τη σύγκριση των μεταβολών της ΔΑΠ μεταξύ των δύο ομάδων).

Από τους 30 ασθενείς που έλαβαν το συνδυασμό VH στο τέλος της παρακολούθησης 25 ασθενείς συνέχισαν τη φαρμακευτική αγωγή έχοντας επιτύχει επίπεδα ΑΠ $< 140/90$ mmHg, ενώ στους υπόλοιπους 5 ασθενείς απαιτήθηκε

τροποποίηση της αντιυπερτασικής φαρμακευτικής αγωγής για την επίτευξη των στόχων της θεραπείας.

Πίνακας 9. Μεταβολές των επιπέδων της ΑΠ					
Ομάδα VH (n=30)			Ομάδα VA (n=30)		
ΣΑΠ (mmHg) Χρόνος 0	ΣΑΠ (mmHg) Χρόνος 1	Μέση ΔΣΑΠ (mmHg)	ΣΑΠ (mmHg) Χρόνος 0	ΣΑΠ (mmHg) Χρόνος 1	Μέση ΔΣΑΠ (mmHg)
155,0±10,7	129,7±12,5***	25,3±10,1	154,3±9,3	131,7±13,0***	22,6±10,5
ΔΑΠ (mmHg) Χρόνος 0	ΔΑΠ (mmHg) Χρόνος 1	Μέση ΔΔΑΠ (mmHg)	ΔΑΠ (mmHg) Χρόνος 0	ΔΑΠ (mmHg) Χρόνος 1	Μέση ΔΔΑΠ (mmHg)
96,8±6,7	82,8±6,6***	14,0±6,1	97,5±7,5	81,6±8,2***	15,8±10,2
***= p<0,001 για τη σύγκριση των τιμών της ΑΠ κατά τη διάρκεια της θεραπείας					

Από τους 30 ασθενείς που έλαβαν το συνδυασμό VA, στο τέλος της παρακολούθησης οι 26 ασθενείς συνέχισαν τη φαρμακευτική αγωγή έχοντας επιτύχει επίπεδα ΑΠ<140/90 mmHg , ενώ στους υπόλοιπους 4 ασθενείς απαιτήθηκε τροποποίηση της αντιυπερτασικής φαρμακευτικής αγωγής για την επίτευξη των στόχων της θεραπείας. Συνεπώς, το ποσοστό των ασθενών που πέτυχε το στόχο της θεραπείας ήταν 83% για την ομάδα VH και 87% για την ομάδα VA (p=μη στατιστικά σημαντική διαφορά όσον αφορά τη σύγκριση του ποσοστού των ασθενών που πέτυχε το στόχο της θεραπείας μεταξύ των δύο ομάδων).

7.4 Επίδραση στις παραμέτρους της ομοιοστασίας του ουρικού οξέος

Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές μεταβολές στις παραμέτρους της ομοιοστασίας του ουρικού οξέος, όπως αυτή αντικατοπτρίζεται στα επίπεδα του SUA και της FEUA. Αναλυτικότερα, οι ασθενείς που εντάχθηκαν στην ομάδα VH εμφάνισαν μια μικρή, μη στατιστικά σημαντική αύξηση των επιπέδων του SUA καθώς και της FEUA, ενώ οι ασθενείς της ομάδας VA εμφάνισαν μια μικρή, μη στατιστικά σημαντική μείωση του SUA (Πίνακας 10).

Πίνακας 10. Μεταβολές στις παραμέτρους της ομοιοστασίας του UA				
Παράμετρος	VH		VA	
	Χρόνος 0	Χρόνος 1	Χρόνος 0	Χρόνος1
SUA (mg/dl)	5,6±1,3	5,9±1,4	5,4±1,1	5,2±1,0
FEUA (%)	6,0±2,9	6,1±3,7	6,6±2,7	6,6±3,0
Συντομογραφίες: FEUA = κλασματική απέκκριση ουρικού οξέος , SUA = ουρικό οξύ ορού				

7.5 Επίδραση στη νεφρική λειτουργία και την πρωτεϊνουρία

Στον Πίνακα 11 διακρίνονται οι επιδράσεις των δύο συνδυασμών στη νεφρική λειτουργία και την πρωτεϊνουρία. Αξίζει να σημειωθεί ότι δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων. Οι ασθενείς που έλαβαν το συνδυασμό VA δεν εμφάνισαν στατιστικά σημαντικές μεταβολές των παραμέτρων της νεφρικής λειτουργίας, όπως αυτή εκτιμήθηκε με βάση τα επίπεδα της SCr και του eGFR, ενώ δεν υπήρχαν μεταβολές όσον αφορά την πρωτεϊνουρία, όπως εκτιμήθηκε με βάση τη νεφρική απέκκριση της α1 μικροσφαιρίνης, των ολικών λευκωμάτων, της αλβουμίνης και της ανοσοσφαιρίνης G. Στους ασθενείς που

Πίνακας 11. Επίδραση στη νεφρική λειτουργία, στην πρωτεϊνουρία και στις κλασματικές απεκκρίσεις των ηλεκτρολυτών				
Παράμετρος	VH		VA	
	Χρόνος 0	Χρόνος 1	Χρόνος 0	Χρόνος 1
GFR (mL/min/1.73 m ²)	86,0±23,9	83,8±24,3	77,5±20,1	76,8±18,7
SCr (mg/dl)	0,98±0,17	1,02±0,26	0,98±0,24	1,00±0,24
SUre (mg/dl)	31,5±8,6	37,0±14,3 ^{**†}	39,0±9,9	40,1±11,8
SUre/SCr	32,5±8,6	37,1±14,2 ^{*†}	40,6±10,0	40,8±10,5
UTPR/UCr (mg/g)	68(30-210)	86(30-210)	126(40-600)	93(20-280)
UIgG/UCr (mg/g)	38 (10-170)	52 (10-160)	45(20-100)	59(10-330)
UAlb/UCr (mg/g)	107(30-500)	117(20-900)	202(30-1110)	186(30-1130)
Ua1M/UCr (mg/g)	68(20-240)	96(20-240)*	83(10-240)	89(20-500)
FENa ⁺ , %	0,5±0,2	0,7±0,5*	0,5±0,3	0,5±0,3
FEK ⁺ , %	9,4±4,5	11,9±6,3	11,3±6,0	12,4±7,8
FEMg ²⁺ , %	2,7(1,4-5,9)	2,9(0,5-5,8)	2,7(1,2-5,1)	2,4(0,8-6,2)
FECa ²⁺ , %	0,9±0,7	0,7±0,3	0,8±0,4	0,7±0,4
FEPO ₄ ³⁻ , %	13,3±6,2	13,3±5,9	11,3±4,1	11,3±5,4
FECl ⁻ , %	0,67±0,28	1,28±0,85 ^{**}	0,88±0,58	0,96±0,47
*p<0,05 για τη σύγκριση των τιμών πριν και μετά την έναρξη της θεραπείας, **p<0,01 για τη σύγκριση των τιμών πριν και μετά την έναρξη της θεραπείας, †p<0,05 για τη σύγκριση μεταξύ των δύο ομάδων				
Συντομογραφίες: GFR= ρυθμός σπειραματικής διήθησης (Cockcroft-Gault),				

SCr= κρεατινίνη ορού, SUre= ουρία ορού, UTPR= ολικές πρωτεΐνες ούρων, UCr= κρεατινίνη ούρων, UlgG= ανοσοσφαιρίνη G ούρων, UAlb= αλβουμίνη ούρων, Ua1m= α-1 μικροσφαιρίνη ούρων, FENa⁺ = κλασματική απέκκριση του νατρίου, FEK⁺= κλασματική απέκκριση του καλίου, FEMg²⁺= κλασματική απέκκριση του μαγνησίου, FECa²⁺= κλασματική απέκκριση του ασβεστίου, FEPO₄³⁻= κλασματική απέκκριση των φωσφορικών, FECl⁻= κλασματική απέκκριση του χλωρίου.

έλαβαν το συνδυασμό VH παρατηρήθηκε μια στατιστικά σημαντική αύξηση των επιπέδων της SUre κατά 17,4% και του λόγου SUre/SCr κατά 14,2%, όπως επίσης και της κλασματικής απέκκρισης του Na⁺ κατά 40% και του Cl⁻ κατά 91%. Επιπλέον, διαπιστώθηκε μια στατιστικά σημαντική αύξηση της νεφρικής απέκκρισης της α1 μικροσφαιρίνης κατά 41%, χωρίς να ανιχνευθούν σημαντικές μεταβολές στη νεφρική απέκκριση των ολικών λευκωμάτων, της αλβουμίνης και της ανοσοσφαιρίνης G.

7.6 Επίδραση στο μεταβολισμό των υδατανθράκων

Κανένας από τους δύο συνδυασμούς αντιυπερτασικών φαρμάκων που χρησιμοποιήθηκαν στη μελέτη δεν συνοδεύτηκε από μεταβολές στις παραμέτρους εκτίμησης του μεταβολισμού της γλυκόζης. Πράγματι, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές των επιπέδων της γλυκόζης και της ινσουλίνης αίματος νηστείας καθώς και του δείκτη HOMA-IR (Πίνακας 12).

Πίνακας 12. Μεταβολές στο μεταβολισμό των υδατανθράκων				
Παράμετρος	VH		VA	
	Χρόνος 0	Χρόνος 1	Χρόνος 0	Χρόνος 1
Glu (mg/dl)	91±10	92±13	90±10	91±12
Insulin (μU/mL)	4,1(2,0-15,0)	4,4(2,6-14,8)	3,4(2,0-13,6)	4,2(2,0-18,9)
HOMA-IR	0,9(0,4-4,4)	0,9(0,7-4,3)	0,8(0,4-3,0)	0,9(0,4-3,7)
Συντομογραφίες: Glu = γλυκόζη νηστείας, Insulin = ινσουλίνη νηστείας, HOMA-IR = Homeostasis Model Assessment				

7.7 Επίδραση στο λιπιδαιμικό προφίλ

Στον Πίνακα 13 φαίνονται οι μεταβολές των λιπιδαιμικών παραμέτρων που παρατηρήθηκαν στους ασθενείς των δύο ομάδων.

Η χορήγηση του συνδυασμού VA δεν συνοδεύθηκε από στατιστικά σημαντικές μεταβολές στα επίπεδα των λιπιδίων και απολιποπρωτεϊνών στον ορό. Αντίθετα, η χορήγηση του συνδυασμού VH είχε ως αποτέλεσμα τη στατιστικά σημαντική αύξηση των τριγλυκεριδίων νηστείας κατά 9% ($p < 0,05$), τη μείωση της HDL-C κατά 5% ($p = 0,023$) και την αύξηση της ApoE κατά 7% ($p = 0,028$), ενώ δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές των επιπέδων της TC, της LDL-C, της apoA1, της apoB, της Lp(a), της apoC-II και της apoC-III. Η σύγκριση των δύο ομάδων έδειξε ότι υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές όσον αφορά τα επίπεδα των TRG, της HDL-C και της ApoE.

Πίνακας 13. Μεταβολές στις λιπιδαιμικές παραμέτρους				
Παράμετρος	VH		VA	
	Χρόνος 0	Χρόνος 1	Χρόνος 0	Χρόνος 1
TC(mg/dl)	234±39	237±37	209±32	213±39
TRG(mg/dl)	111(57-346)	121(62-301)*†	109(44-242)	107(56-384)
HDL-C(mg/dl)	60±13	57±14*†	60±12	59±15
LDL-C(mg/dl)	132±39	131±35	129±28	131±33
ApoA1(mg/dl)	161±26	158±23	163±26	159±31
ApoB(mg/dl)	92±25	94±28	89±20	89±23
ApoE(mg/dl)	43±14	46±15*†	40±12	41±12
Lp(a)(mg/dl)	19(2-109)	21(2-85)	13(2-56)	9(2-49)
ApoC-II(mg/dl)	4,3±1,5	4,5±1,6	3,5±1,2	3,7±1,3
ApoC-III(mg/dl)	11,6±2,8	12,5±3,7	9,7±2,5	10,4±3,7
*p<0,05 για τη σύγκριση των τιμών πριν και μετά την έναρξη της θεραπείας, †<0,05 για τη σύγκριση μεταξύ των δύο ομάδων				
Συντομογραφίες: TC = ολική χοληστερόλη, TRG = τριγλυκερίδια, HDL-C = χοληστερόλη των υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, LDL-C = χοληστερόλη των χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, apo = απολιποπρωτεΐνη, Lp(a)= λιποπρωτεΐνη α				

7.8 Επίδραση στα υποκλάσματα των LDL

Στον Πίνακα 14 φαίνεται η επίδραση των δύο συνδυασμών αντιυπερτασικών φαρμάκων στα υποκλάσματα των LDL.

Πίνακας 14. Μεταβολές στα υποκλάσματα των LDL				
Παράμετρος	VH		VA	
	Χρόνος 0	Χρόνος 1	Χρόνος 0	Χρόνος 1
lbLDL-C(%)	42,7±11,2	41,2±11,5*†	43,4±14,6	44,9±13,9
sdLDL-C(%)	4(0-27,7)	6,3(1,4-30,9)*†	3,3(0-20,5)	3,5(0-16,1)
IDL-C(%)	52,7±11,2	48,9±12*†	52,7±15,5	52,8±14,7
LDL size(Å)	267,2±4,6	266,1±4,6*†	268,3±3,4	268,2±3,3
lbLDL-C(mg/dl)	56,3±22,5	54,1±21,5*†	55,9±23,2	57,3±21,7
sdLDL-C(mg/dl)	4,4(0-44,6)	8,2(1,3-41,3)*†	4,2(0-27,1)	4,5(0-27,4)
IDL-C(mg/dl)	69,4±15,3	63,7±15,9***†	67,7±23,6	67,6±27,1
VLDL-C(mg/dl)	43,9±11,6	47,0±13,4*†	43,4±10,8	42,7±10,1
*p<0,05 για τη σύγκριση των τιμών πριν και μετά την έναρξη της θεραπείας, **p<0,01 για τη σύγκριση των τιμών πριν και μετά την έναρξη της θεραπείας, †p<0,05 για τη σύγκριση μεταξύ των δύο ομάδων				
Συντομογραφίες: lbLDL-C = χοληστερόλη των μεγάλων LDL υποκλασμάτων, IDL-C = χοληστερόλη των ενδιάμεσης πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, sdLDL-C = χοληστερόλη των μικρών-πυκνών LDL υποκλασμάτων, LDL size = μέσο μέγεθος των LDL σωματιδίων, VLDL-C = χοληστερόλη των πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών				

Οι ασθενείς που έλαβαν το συνδυασμό VA δεν εμφάνισαν στατιστικά σημαντικές μεταβολές στα υποκλάσματα των LDL. Αντίθετα, στους ασθενείς της ομάδας VH παρατηρήθηκε μείωση του ποσοστού των μεγαλύτερων LDL υποκλασμάτων και των IDL και σημαντική αύξηση του ποσοστού των μικρών πυκνών LDL. Παράλληλα παρατηρήθηκε μείωση της συγκέντρωσης της χοληστερόλης των μεγαλύτερων LDL υποκλασμάτων καθώς και των IDL, με παράλληλη αύξηση της συγκέντρωσης της

χοληστερόλης των μικρών πυκνών LDL υποκλασμάτων, αύξηση της χοληστερόλης των VLDL και αντίστοιχα μείωση του μέσου μεγέθους των LDL σωματιδίων.

Στους ασθενείς της ομάδας VH η αύξηση της συγκέντρωσης της χοληστερόλης των sdLDL υποκλασμάτων συσχετιζόταν με την αύξηση των TRG ($r=0,77$, $p<0,01$), με την αύξηση της apoE ($r=0,40$, $p<0,05$) καθώς και με την αύξηση της συγκέντρωσης της χοληστερόλης των VLDL ($r=0,65$, $p<0,01$). Επίσης, στην ίδια ομάδα ασθενών η μείωση του μέσου μεγέθους των LDL σωματιδίων συσχετιζόταν με την αύξηση των TRG ($r=0,62$, $p<0,05$) και την αύξηση της χοληστερόλης των VLDL ($r=0,74$, $p<0,01$).

7.9 Επίδραση στα υποκλάσματα των HDL

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως η χορήγηση του συνδυασμού VH οδήγησε σε μια στατιστικά σημαντική μείωση της HDL-C κατά 5%. Στον Πίνακα 15 διακρίνονται οι επιδράσεις των δύο συνδυασμών αντιυπερτασικών φαρμάκων που χρησιμοποιήθηκαν στη μελέτη στα υποκλάσματα των HDL.

Αναλυτικά, στους ασθενείς της ομάδας VH παρατηρήθηκε μείωση της χοληστερόλης των μικρών πυκνών HDL υποκλασμάτων κατά 7,3% ($p<0,05$) καθώς και μείωση της χοληστερόλης των ενδιάμεσων HDL υποκλασμάτων κατά 5,2% ($p<0,05$). Αντίθετα, στους ασθενείς της ομάδας VA δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές της συγκέντρωσης της χοληστερόλης των HDL υποκλασμάτων. Κατά τη σύγκριση των δύο ομάδων μεταξύ τους η μεταβολή της χοληστερόλης των ενδιάμεσων και των μικρών πυκνών HDL υποκλασμάτων ήταν στατιστικά σημαντική ($p<0,05$).

Πίνακας 15. Μεταβολές στα υποκλάσματα της HDL				
Παράμετρος	VH		VA	
	Χρόνος 0	Χρόνος 1	Χρόνος 0	Χρόνος 1
HDL-C(mg/dl)	60±13	57±14*†	60±12	59±15
SmallHDL-C (mg/dl)	15,0±3,2	13,9±3,2*†	12,0±3,0	12,1±2,7
IntermediateHDL-C (mg/dl)	30,9±7,4	29,3±6,1*†	29,0±6,6	31,2±9,4
LargeHDL-C (mg/dl)	15,1±1,4	14,8±1,5	19,4±7,8	17,0±6,3
*p<0,05 για τη σύγκριση των τιμών πριν και μετά την έναρξη της θεραπείας, †<0,05 για τη σύγκριση μεταξύ των δύο ομάδων				
Συντομογραφίες: largeHDL-C = Χοληστερόλη των μεγάλων HDL, smallHDL-C = Χοληστερόλη των μικρών-πυκνών HDL, intermediateHDL-C = Χοληστερόλη των ενδιάμεσων HDL				

7.10 Επίδραση στην ενεργότητα της LpPLA2 του πλάσματος

Πίνακας 16. Μεταβολές στην ενεργότητα της LpPLA2 του πλάσματος				
Παράμετρος	VH		VA	
	Χρόνος 0	Χρόνος 1	Χρόνος 0	Χρόνος 1
Ενεργότητα της LpPLA2 (nmol/ml/min)	49,1±10,5	55,3±19,6†	50,6±16,7	45,6±11,9†
†<0,05 για τη σύγκριση μεταξύ των δύο ομάδων				
Συντομογραφίες: LpPLA2= συνδεδεμένη με λιποπρωτεΐνες φωσφολιπάση A2				

Στον Πίνακα 16 φαίνονται οι μεταβολές της ενεργότητας της LpPLA2 του πλάσματος στις δύο ομάδες της μελέτης. Στην ομάδα VH παρατηρήθηκε αύξηση της ενεργότητας της LpPLA2 του πλάσματος κατά 12,6% ενώ στην ομάδα VA παρατηρήθηκε μείωσή της κατά 9,9%. Παρότι οι δύο αυτές μεταβολές δεν ήταν στατιστικά σημαντικές, η σύγκριση των μεταβολών μεταξύ των δύο ομάδων έδειξε ότι υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά.

Στους ασθενείς που έλαβαν το συνδυασμό VH η αύξηση της ενεργότητας της LpPLA2 συσχετιζόταν την αύξηση της TCHOL ($r=0,46$, $p<0,05$), με την αύξηση των TRG ($r=0,51$, $p<0,01$), με τη μείωση της LDL-C ($r=0,48$, $p<0,05$), με την αύξηση της apoB ($r=0,55$, $p<0,01$), με την αύξηση της VLDL-C ($r=0,49$, $p<0,05$) και την αύξηση της sdLDL-C ($r=0,48$, $p<0,05$), ενώ συσχετιζόταν αρνητικά με τη μείωση της lLDL-C ($r=-0,52$, $p<0,01$). Στους ασθενείς που έλαβαν το συνδυασμό VA η μείωση της ενεργότητας της LpPLA2 δε συσχετιζόταν με καμία από τις παραμέτρους που εκτιμήθηκαν στην παρούσα μελέτη.

7.11 Επίδραση στα επίπεδα της hsCRP

Πίνακας 17. Μεταβολές στα επίπεδα της hsCRP				
Παράμετρος	VH		VA	
	Χρόνος 0	Χρόνος 1	Χρόνος 0	Χρόνος 1
hsCRP (mg/l)	3,0(0,4-7,2)	4,1(0,4-12,3)	1,9(0,3-8,7)	2,8(0,3-8,7)
Συνοτομογραφίες: hsCRP= C-αντιδρώσα πρωτεΐνη υψηλής ευαισθησίας				

Και οι δύο συνδυασμοί είχαν ως αποτέλεσμα μικρή αύξηση των επιπέδων της hsCRP που δεν ήταν στατιστικά σημαντική (Πίνακας 17).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

8.1 Επίδραση στη νεφρική λειτουργία και την πρωτεϊνουρία

Η ΑΥ, όπως αναφέρθηκε σε προηγούμενο κεφάλαιο, μπορεί να προκαλέσει βλάβη στους νεφρούς με διάφορους μηχανισμούς με αποτέλεσμα τη μείωση του ρυθμού σπειραματικής διήθησης, αλβουμινουρία και τελικά ΧΝΝ. Αντίστοιχα, η ΑΥ είναι η πιο συχνή συννοσηρότητα σε ασθενείς με ΧΝΝ, με την επίπτωσή της να αυξάνει με την επιδείνωση της νεφρικής λειτουργίας(371). Τα άτομα με ΑΥ εμφανίζουν αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο, ο οποίος αυξάνεται περαιτέρω με την εγκατάσταση της ΧΝΝ(372). Για αυτό το λόγο η ΑΥ αποτελεί ένα σημαντικό τροποποιήσιμο παράγοντα κινδύνου, η αντιμετώπιση του οποίου δύναται να επιβραδύνει την περαιτέρω έκπτωση της νεφρικής λειτουργίας σε ασθενείς με ΧΝΝ και να μειώσει τον κίνδυνο εμφάνισης ΧΝΝ σε άτομα με φυσιολογική νεφρική λειτουργία(373).

Σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες της JNC 8 σε άτομα με ΧΝΝ (eGFR<60ml/min/1.73m² ή/και αλβουμινουρία >30mg αλβουμίνης ούρων ανά gr κρεατινίνης) ο στόχος της αντιυπερτασικής αγωγής είναι η μείωση της ΑΠ σε επίπεδα<140/90 mmHg, ενώ συνιστάται η χορήγηση αντιυπερτασικής φαρμακευτικής αγωγής που παρεμβαίνει στον άξονα ΡΑΑ, δηλαδή ΑΜΕΑ ή ΑRB(61). Τα φάρμακα αυτά μειώνουν την ενδοσπειραματική πίεση (διαμέσου αγγειοδιαστολής των απαγωγών αρτηριολίων) και έτσι οδηγούν σε μείωση της πρωτεϊνουρίας και παρά το γεγονός ότι τους πρώτους μήνες μετά τη χορήγησή τους μπορεί να προκαλέσουν μία μικρή αύξηση της κρεατινίνης του ορού (<30%), η μακροχρόνια χορήγησή τους έχει ως αποτέλεσμα την επιβράδυνση της επιδείνωσης

της ΧΝΝ(374, 375). Η επίδραση στη νεφρική λειτουργία του συνδυασμού ενός φαρμάκου που παρεμβαίνει στον άξονα ΡΑΑ (βεναζεπρίλη) είτε με θειαζιδικό διουρητικό (HCTZ) ή ανταγωνιστή των διαύλων ασβεστίου της κατηγορίας των διωδροπυρινιδών (αμλοδιπίνη) αποτέλεσε το αντικείμενο έρευνας μιας μεγάλης τυχαιοποιημένης μελέτης (ACCOMPLISH) στην οποία συμμετείχαν 11506 ασθενείς. Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης έδειξαν ότι η χορήγηση του συνδυασμού βεναζεπρίλης με αμλοδιπίνη έναντι βεναζεπρίλης με HCTZ είχε ως αποτέλεσμα μικρότερη επίπτωση επιδείνωσης της νεφρικής λειτουργίας (2% έναντι 3,7%), που ορίσθηκε ως διπλασιασμός της κρεατινίνης ορού ή εμφάνιση τελικού σταδίου νεφρικής ανεπάρκειας ($GFR < 60 \text{ ml/min/1.73m}^2$)(167).

Στην παρούσα μελέτη κανένας από τους δύο συνδυασμούς (VH και VA) δεν οδήγησε σε στατιστικά σημαντική μεταβολή της νεφρικής λειτουργίας. Παρόλα αυτά υπάρχει μια τάση μεγαλύτερης μείωσης του GFR στην ομάδα που έλαβε το συνδυασμό VH έναντι του συνδυασμού VA. Αυτή η παρατήρηση συμβαδίζει με τα αποτελέσματα της μελέτης ACCOMPLISH που αναφέρθηκαν. Ο μικρός πληθυσμός της παρούσας μελέτης σε συνδυασμό με τη σύντομη χρονική διάρκεια παρακολούθησης πιθανόν δεν επέτρεψαν την εντόπιση στατιστικά σημαντικών μεταβολών της νεφρικής λειτουργίας.

Η μικροαλβουμινουρία ορίζεται ως η νεφρική απέκκριση αλβουμίνης 30-300mg/gr κρεατινίνης και συσχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών επιπλοκών τόσο σε διαβητικούς όσο και σε μη διαβητικούς ασθενείς(376). Υπάρχουν σαφείς ενδείξεις ότι η μείωση της πρωτεϊνουρίας συνεπάγεται μείωση του καρδιαγγειακού κινδύνου(377). Η ευεργετική επίδραση των AMEA και των ARBs

στην πρωτεϊνουρία έχει αποδειχθεί από διάφορες μελέτες(207, 378). Στην παρούσα μελέτη διερευνήθηκε η επίδραση στην πρωτεϊνουρία των σταθερών συνδυασμών της βαλσαρτάνης με αμλοδιπίνη ή HCTZ. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η χορήγηση του συνδυασμού VH, αλλά όχι του VA, συνοδεύθηκε από μια στατιστικά σημαντική αύξηση της νεφρικής απέκκρισης της α -1 μικροσφαιρίνης, ενώ δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές όσον αφορά τη νεφρική απέκκριση των ολικών λευκωμάτων, της αλβουμίνης και της IgG ανοσοσφαιρίνης.

Η α -1 μικροσφαιρίνη είναι μία γλυκοπρωτεΐνη με μοριακό βάρος 26.000-31.000(379), η οποία κυκλοφορεί στο αίμα είτε σε ελεύθερη μορφή, είτε συνδεδεμένη με ανοσοσφαιρίνη G ή αλβουμίνη(380). Λόγω του χαμηλού μοριακού της βάρους, η ελεύθερη μορφή της διέρχεται απρόσκοπτα από τη βασική μεμβράνη του νεφρικού σπειράματος και επαναρροφάται από τα επιθηλιακά κύτταρα των εγγύς εσπειραμένων σωληναρίων(381). Για αυτό το λόγο οποιαδήποτε δυσλειτουργία στο επίπεδο των εγγύς εσπειραμένων σωληναρίων έχει ως αποτέλεσμα την αυξημένη απέκκριση της α -1 μικροσφαιρίνης στα ούρα.

Μελέτες έδειξαν ότι η συγχορήγηση ενός ARB με HCTZ μειώνει την πρωτεϊνουρία σε υπερτασικούς ασθενείς(382). Πειραματικές μελέτες έδειξαν ότι τόσο οι ARB όσο και τα θειαζιδικά διουρητικά δεν συσχετίζονται με βλάβες των επιθηλιακών κυττάρων των εγγύς εσπειραμένων σωληναρίων(112, 383). Έτσι, η αύξηση της νεφρικής απέκκρισης της α -1 μικροσφαιρίνης στους ασθενείς της ομάδας VH που παρατηρήθηκε στην παρούσα μελέτη ενδέχεται να οφείλεται σε λειτουργική διαταραχή των επιθηλιακών κυττάρων των εγγύς εσπειραμένων σωληναρίων.

8.2 Επίδραση στα υποκλάσματα των LDL

Οι LDL αποτελούν ένα ετερογενή πληθυσμό σωματιδίων με διαφορετικό μέγεθος, πυκνότητα και χημική σύσταση. Μελέτες έδειξαν ότι τα μικρά πυκνά LDL σωματίδια εμφανίζουν μεγαλύτερες αθηρογόνες δυνατότητες σε σύγκριση με τα μεγαλύτερα LDL σωματίδια(384) και συσχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης στεφανιαίας νόσου και ΑΕΕ(385, 386). Όπως είναι γνωστό, ορισμένα αντιυπερτασικά φάρμακα μεταξύ των οποίων τα θειαζιδικά διουρητικά και οι β-αποκλειστές, φαίνεται ότι επηρεάζουν δυσμενώς το λιπιδαιμικό προφίλ(387-389), ένα γεγονός το οποίο ενδέχεται να επηρεάζει το συνολικό καρδιαγγειακό κίνδυνο των υπερτασικών ασθενών(387).

Είναι γνωστό ότι τα θειαζιδικά διουρητικά αυξάνουν τα επίπεδα των TRG και της VLDL-C, καθώς επίσης και της ολικής χοληστερόλης και LDL-C, με μηχανισμούς που δεν είναι ακόμη πλήρως κατανοητοί(388, 390). Αντίθετα, τα φάρμακα που παρεμβαίνουν στο σύστημα ΡΑΑ φαίνεται ότι έχουν κάποια ήπια ευεργετική επίδραση στο λιπιδαιμικό προφίλ, αφού μελέτες έδειξαν ότι μπορούν να μειώσουν τα TRG, ιδιαίτερα σε ασθενείς με πολύ αυξημένα TRG, και τα επίπεδα της ΤCHOL(389). Τέλος, οι CCB φαίνεται ότι είναι μεταβολικά ουδέτερα φάρμακα, αφού δεν προκαλούν σημαντικές μεταβολές των μεταβολικών και λιπιδαιμικών παραμέτρων(389).

Στην παρούσα κλινική μελέτη εκτιμήθηκε η επίδραση στις λιπιδαιμικές παραμέτρους των σταθερών συνδυασμών της βαλσαρτάνης με ΗCTZ ή αμλοδιπίνη. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης, διαπιστώθηκε μια σημαντική αύξηση

της συγκέντρωσης της χοληστερόλης των μικρών πυκνών LDL σωματιδίων στους ασθενείς της ομάδας VH, σε συνδυασμό με μείωση της συγκέντρωσης της χοληστερόλης των μεγαλύτερων LDL σωματιδίων και των IDL. Οι μεταβολές αυτές αντικατοπτρίζονται από τη σημαντική μείωση του μέσου μεγέθους των LDL σωματιδίων που παρατηρήθηκε στους ασθενείς που εντάχθηκαν στην ομάδα VH. Αυτές οι μεταβολές ήταν στατιστικά σημαντικές κατά τη σύγκριση των δύο ομάδων της μελέτης. Παρατηρήθηκε λοιπόν ότι η χορήγηση του συνδυασμού VH συνοδεύεται από δυσμενείς μεταβολές του λιπιδαιμικού προφίλ των ασθενών, οι οποίες ενδεχομένως να έχουν αρνητικό αντίκτυπο στο συνολικό καρδιαγγειακό κίνδυνο αυτών των ασθενών. Αντίθετα, η χορήγηση του συνδυασμού VA δεν συνοδεύτηκε από σημαντικές μεταβολές τόσο των κλασικών λιπιδαιμικών παραμέτρων (TCHOL, HDL-C, TRG, LDL-C) , όσο και της σύστασης των LDL σωματιδίων.

Πολλές από τις δυσμενείς επιδράσεις του συνδυασμού VH στο λιπιδαιμικό προφίλ μπορούν να αποδοθούν στη χορήγηση HCTZ(391). Πράγματι, σε μία μελέτη σε 1139 υπερτασικούς ασθενείς, η χορήγηση HCTZ για 4-16 εβδομάδες συνοδεύθηκε από αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης υψηλών επιπέδων TCHOL (>240mg/dl) σε σύγκριση με τη χορήγηση ARBs (392). Αυτή η επίδραση φαίνεται ότι είναι δόσοεξαρτώμενη. Έτσι, η χορήγηση σχετικά χαμηλής ημερήσιας δόσης HCTZ (12,5mg/d) στην παρούσα μελέτη πιθανά δεν επέτρεψε την εμφάνιση πιο σημαντικών μεταβολικών διαταραχών(390, 393).

Όπως φάνηκε στα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, υπήρχε μία θετική συσχέτιση της αύξησης της συγκέντρωσης της χοληστερόλης των sdLDL

υποκλασμάτων στην ομάδα VH με την αύξηση των TRG ($r=0,77$, $p<0,01$), με την αύξηση της apoE ($r=0,40$, $p<0,05$) καθώς και με την αύξηση της συγκέντρωσης της χοληστερόλης των VLDL ($r=0,65$, $p<0,01$). Η αύξηση των επιπέδων των πλούσιων σε τριγλυκερίδια λιποπρωτεϊνών, η οποία αντικατοπτρίζεται από την αύξηση της συγκέντρωσης των VLDL-C, ενδεχομένως αποτελεί τον κύριο μηχανισμό που εξηγεί την ανακατανομή των LDL υποκλασμάτων, δηλαδή την αύξηση των μικρών πυκνών LDL υποκλασμάτων και τη μείωση των μεγαλύτερων LDL υποκλασμάτων και των IDL στους ασθενείς της ομάδας VH. Πράγματι, η αύξηση της συγκέντρωσης των μεγαλύτερων και πλούσιων σε τριγλυκερίδια VLDL σωματιδίων αποτελεί το υπόστρωμα για την παραγωγή των sdLDL σωματιδίων(394). Σε αυτές τις περιπτώσεις πραγματοποιείται μεταφορά TRG από τις πλούσιες σε TRG λιποπρωτεΐνες στις LDL με τη δράση του ενζύμου CETP. Στη συνέχεια, η ηπατική λιπάση υδρολύει τα TRG των LDL σωματιδίων με τελικό αποτέλεσμα το σχηματισμό μικρών πυκνών LDL σωματιδίων(61).

Λίγες και μικρές μελέτες έχουν προς το παρόν διερευνήσει την επίδραση των διάφορων αντιυπερτασικών φαρμάκων στα υποκλάσματα των LDL. Σε μία από αυτές τις μελέτες, η μετοπρολόλη μείωσε το μέγεθος των LDL σωματιδίων διαμέσου αύξησης των επιπέδων των TRG, τόσο σε νηστεία όσο και μεταγευματικά, ένα γεγονός που οφείλεται στην αυξημένη ηπατική παραγωγή VLDL(395). Σε μία άλλη μελέτη, η χορήγηση δοξαζοσίνης είχε ως αποτέλεσμα αύξηση του μεγέθους των LDL σωματιδίων σε διαβητικούς και μη διαβητικούς ασθενείς(396). Επιπρόσθετα, η χορήγηση βεναζεπρίλης ή αμλοδιπίνης, μεμονωμένα ή σε συνδυασμό, για 36 εβδομάδες σε 27 ασθενείς με ΣΔ τύπου 2, δεν μετέβαλε το μέγεθος των LDL σωματιδίων(397). Τέλος, η χορήγηση βαλσαρτάνης (80 mg/d) για 12 εβδομάδες σε

55 ασθενείς με ΣΔ τύπου 2, οδήγησε σε αύξηση του μεγέθους των LDL σωματιδίων, η οποία αποδόθηκε σε αυξημένη παραγωγή λιποπρωτεϊνικής λιπάσης από τα λιποκύτταρα(398).

8.3 Επίδραση στα υποκλάσματα των HDL

Τα βιβλιογραφικά δεδομένα υποστηρίζουν την άποψη ότι τα θειαζιδικά διουρητικά ασκούν ουδέτερη δράση στα επίπεδα της HDL-C, με λίγες αναφορές να δείχνουν μία μικρή μείωσή τους(391, 399). Όσον αφορά τους ARBs επίσης φαίνεται ότι δεν προκαλούν σημαντικές μεταβολές στα επίπεδα της HDL-C, με εξαίρεση ορισμένες αναφορές που δείχνουν μικρή αύξησή τους(391, 398). Αξίζει να σημειωθεί ότι η μείωση των επιπέδων της HDL-C σε συνδυασμό με την αύξηση των επιπέδων των TRG φαίνεται ότι συσχετίζεται με αύξηση των μικρών πυκνών LDL υποκλασμάτων(400).

Στην παρούσα μελέτη, στους ασθενείς της ομάδας VH παρατηρήθηκε μία μείωση της συγκέντρωσης της χοληστερόλης των μικρών και ενδιάμεσων HDL σωματιδίων , η οποία είναι υπεύθυνη για τη συνολική μείωση των επιπέδων της HDL-C. Αντίθετα, στους ασθενείς της ομάδας VA δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές ούτε στα επίπεδα της HDL-C, ούτε στη συγκέντρωση των υποκλασμάτων της HDL. Μέχρι σήμερα στην επιστημονική κοινότητα δεν υπάρχει ομοφωνία για το αν τα μικρά ή τα μεγάλα υποκλάσματα της HDL εμφανίζουν ισχυρότερη αντιαθηρογόνο δράση. Επιδημιολογικές μελέτες έδειξαν ότι σε ασθενείς με ΣΝ επικρατούν τα μικρά και πλούσια σε TRG HDL σωματίδια έναντι των μεγαλύτερων και πλουσίων σε χοληστερόλη HDL σωματιδίων(401). Επίσης, υπάρχουν ενδείξεις ότι τα μεγαλύτερα HDL υποκλάσματα έχουν μεγαλύτερη αντιαθηρογόνο δράση(402, 403). Άλλοι

ερευνητές έχουν προτείνει ότι η εμφάνιση στεφανιαίων συμβαμάτων συσχετίζεται με την παρουσία αυξημένης συγκέντρωσης των μικρότερων HDL υποκλασμάτων και χαμηλής συγκέντρωσης των μεγαλύτερων HDL υποκλασμάτων(404). Επίσης, τα μικρά πυκνά HDL σωματίδια είναι υπεύθυνα για τις περισσότερες αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις δράσεις της HDL, εξαιτίας της αυξημένης παρουσίας αντιαθηρογόνων ενζύμων, όπως είναι η LpPLA₂ που συνδέεται με τις HDL και η παραοξονάση-1(282). Έτσι, η παρατηρούμενη στην παρούσα μελέτη μείωση της συγκέντρωσης της χοληστερόλης των μικρών HDL σωματιδίων στους ασθενείς της ομάδας VH μένει να διευκρινιστεί κατά πόσο αποτελεί ευεργετική πλειότροπη δράση του συγκεκριμένου φαρμακευτικού συνδυασμού ή δυσμενή επίδραση στο προφίλ των υποκλασμάτων της HDL.

Υπάρχουν περιορισμένα βιβλιογραφικά δεδομένα όσον αφορά την επίδραση των αντιυπερτασικών φαρμάκων στα HDL υποκλάσματα. Σε 21 υπερτασικούς άνδρες, η χορήγηση πενβουτολόλης οδήγησε σε μείωση της συγκέντρωσης της HDL-C διαμέσου μείωσης των μικρών HDL₃, ενώ η χορήγηση ατενολόλης είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της συγκέντρωσης της HDL-C διαμέσου αύξησης των HDL₃(405). Επιπλέον, η χορήγηση αμλοδιπίνης ή βεναζεπρίλης, μεμονωμένα ή σε συνδυασμό, για 36 εβδομάδες σε 27 ασθενείς με ΣΔ τύπου 2, δεν προκάλεσε σημαντικές μεταβολές των HDL₂ και HDL₃(397).

8.4 Επίδραση στην ενεργότητα της LpPLA₂

Υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις ότι η αύξηση της ενεργότητας της LpPLA₂ οδηγεί σε αύξηση του καρδιαγγειακού κινδύνου και της ολικής θνητότητας, αφού το ένζυμο παρεμβαίνει στον παθογενετικό μηχανισμό της αθηροσκλήρωσης(406, 407). Αρχικά

δεδομένα έδειξαν ότι η χορήγηση του darapladib, ενός αναστολέα της LpPLA2, δρα ανασταλτικά στη διαδικασία της αθηροσκλήρωσης τόσο σε πειραματικά μοντέλα όσο και σε μικρές μελέτες ασθενείς με ΣΝ(408-410), αλλά, η χορήγησή του σε προοπτικές τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες φάσης III απέτυχε να μειώσει το συνολικό καρδιαγγειακό κίνδυνο(411-413). Παράλληλα, μία μεγάλη μεταανάλυση σε 79036 ασθενείς έδειξε ότι η αύξηση τόσο της μάζας όσο και της ενεργότητας της LpPLA2 αυξάνουν τον κίνδυνο ΣΝ και καρδιαγγειακού θανάτου(414). Φαίνεται λοιπόν ότι η LpPLA2 αποτελεί ένα βιοδείκτη που συσχετίζεται με την αύξηση του καρδιαγγειακού κινδύνου, αλλά δεν αποτελεί θεραπευτικό στόχο (345, 415).

Έχει παρατηρηθεί ότι οι υπερτασικοί ασθενείς εμφανίζουν αυξημένη ενεργότητα της LpPLA2 συγκριτικά με τα νορμοτασικά άτομα(416), χωρίς όμως να έχει διευκρινιστεί αν αυτή η αύξηση οφείλεται στα αυξημένα επίπεδα της ΑΠ ή στη συνύπαρξη και άλλων νοσολογικών οντοτήτων (δυσλιπιδαιμία, παχυσαρκία, μεταβολικό σύνδρομο) που επηρεάζουν την ενζυμική δραστηριότητα της LpPLA2(417). Όσον αφορά την επίδραση των αντιυπερτασικών φαρμάκων στην ενεργότητα της LpPLA2, φαίνεται ότι τα φάρμακα που παρεμβαίνουν στον άξονα ΡΑΑ δεν συνοδεύονται από μεταβολές των επιπέδων της(418-420), όπως επίσης και οι ανταγωνιστές των διαύλων ασβεστίου(420, 421). Αντίθετα, η χορήγηση διουρητικών έχει συσχετισθεί με αύξηση της ενεργότητας της LpPLA2(340).

Στη μελέτη μας διαπιστώθηκε μια σημαντική διαφορά στην ενεργότητα της LpPLA2 μεταξύ των δύο ομάδων. Συγκεκριμένα, η LpPLA2 αυξήθηκε κατά 12,6% στην ομάδα VΗ και μειώθηκε κατά 9,9% στην ομάδα VΑ. Αυτή η διαφορά πιθανά οφείλεται στη χορήγηση του θειαζιδικού διουρητικού. Είναι γνωστό ότι η LpPLA2 εκφράζεται κατά

κύριο λόγο από τα sdLDL σωματίδια(422). Η παρατηρούμενη στην παρούσα μελέτη αύξηση των επιπέδων των sdLDL στους ασθενείς της ομάδας VH φαίνεται ότι αποτελεί και την κύρια αιτία της αύξησης της LpPLA2 στους ασθενείς που πήραν διουρητικό και επομένως και της διαφοράς της ενζυμικής δραστηριότητας μεταξύ των δύο ομάδων. Πράγματι, όπως αναφέρθηκε στα αποτελέσματα της μελέτης η αύξηση της ενεργότητας της LpPLA2 στους ασθενείς της ομάδας VH συσχετιζόταν θετικά με την αύξηση της sdLDL-C ($r=0,48$, $p<0,05$) και αρνητικά με τη μείωση της lbLDL-C ($r=-0,52$, $p<0,01$).

8.5 Επίδραση στο μεταβολισμό των πλούσιων σε TRG λιποπρωτεϊνών

Αν και η συσχέτιση των TRG με την καρδιαγγειακή νοσηρότητα και θνητότητα παραμένει αμφιλεγόμενη, ωστόσο υπάρχουν αυξανόμενες ενδείξεις από επιδημιολογικές μελέτες που υποστηρίζουν το ρόλο των TRG ως ανεξάρτητου παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου(423-426). Παράλληλα, δεδομένα από γενετικές μελέτες με μεντελική τυχαιοποίηση υποστηρίζουν επίσης ότι τα τριγλυκερίδια και οι πλούσιες σε τριγλυκερίδια λιποπρωτεΐνες συσχετίζονται με τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου(427-433), ενώ και η φαρμακευτική ελάττωση των επιπέδων των TRG στον ορό φαίνεται ότι πιθανώς συνοδεύεται από κάποιου βαθμού μείωση του κινδύνου εμφάνισης καρδιαγγειακών επιπλοκών(434-440). Έτσι αποκτά ιδιαίτερη αξία η επίδραση των αντιυπερτασικών φαρμάκων στο μεταβολισμό των πλούσιων σε τριγλυκερίδια λιποπρωτεϊνών.

Η βαλσαρτάνη φαίνεται ότι ασκεί ουδέτερη επίδραση στα επίπεδα των TRG νηστείας, αν και υπάρχουν ορισμένες αναφορές ότι μπορεί να προκαλέσει μικρή μείωσή τους(213, 441), ενώ η χορήγηση αμλοδιπίνης δεν επηρεάζει τα επίπεδα των TRG νηστείας(442). Αντίθετα, η HCTZ και τα υπόλοιπα θειαζιδικά διουρητικά αποδεδειγμένα συσχετίζονται με δόσοεξαρτώμενη αύξηση των επιπέδων των TRG(443), με μηχανισμό ο οποίος δεν έχει πλήρως κατανοηθεί. Ένας πιθανός μηχανισμός για την επίδραση της HCTZ στα επίπεδα των TRG στον ορό βασίζεται σε δεδομένα που υποστηρίζουν ότι τα θειαζιδικά διουρητικά αυξάνουν τη δραστηριότητα του αυτόνομου νευρικού συστήματος και τα επίπεδα της νορεπινεφρίνης στο αίμα. Η αύξηση αυτή οδηγεί σε επιτάχυνση της απελευθέρωσης λιπαρών οξέων, της λιπόλυσης και της ηπατικής σύνθεσης πλούσιων σε TRG VLDL σωματιδίων(444, 445). Ένας άλλος πιθανός μηχανισμός συσχετίζεται με την αύξηση της αντίστασης στην ινσουλίνη, που παρατηρείται μετά από τη χορήγηση θειαζιδικών διουρητικών, η οποία με τη σειρά της, ενδεχομένως και διαμέσου της συνυπάρχουσας υπερινσουλιναμίας, μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση των τριγλυκεριδίων(444, 446).

Στην παρούσα μελέτη παρατηρήθηκε αύξηση των επιπέδων των TRG νηστείας στους ασθενείς της ομάδας VH κατά 9%, ενώ δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές τους στην ομάδα VA. Η αύξηση αυτή μπορεί να αποδοθεί στη χορήγηση του θειαζιδικού διουρητικού.

Παρόμοια αποτελέσματα προέκυψαν και από μία μελέτη σε 169 υπερτασικούς ασθενείς με ΣΔ τύπου 2 στην οποία η χορήγηση για 16 εβδομάδες συνδυασμού βαλσαρτάνης (80mg) με HCTZ (12,5mg) έναντι αμλοδιπίνης (5mg) με βεναζεπρίλη

(10mg) είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση των TRG νηστείας κατά 16% στους ασθενείς που πήραν HCTZ(447).

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η χορήγηση των συνδυασμών της βαλσαρτάνης με υδροχλωροθειαζίδη ή με αμλοδιπίνη σε υπερτασικούς ασθενείς μείωσε αποτελεσματικά τα επίπεδα της αρτηριακής πίεσης και στις δύο ομάδες ασθενών. Η χορήγηση του συνδυασμού που περιλαμβάνει την υδροχλωροθειαζίδη συνοδεύτηκε από σημαντικότερες μεταβολές μεταβολικών παραμέτρων έναντι της χορήγησης του συνδυασμού που περιλαμβάνει την αμλοδιπίνη. Πιο συγκεκριμένα στους ασθενείς που έλαβαν το συνδυασμό της βαλσαρτάνης με HCTZ παρατηρήθηκε μια τάση επιδείνωσης της νεφρικής λειτουργίας, όπως αυτή εκτιμάται με το eGFR. Επίσης, στην ίδια ομάδα ασθενών διαπιστώθηκε αύξηση των TRG νηστείας και μείωση της HDL-C, ενώ παρατηρήθηκε μια ποιοτική επιδείνωση του προφίλ της LDL-C καθώς παρατηρήθηκε μείωση της χοληστερόλης των μεγαλύτερων LDL υποκλασμάτων και αύξηση της χοληστερόλης των μικρότερων και περισσότερο αθηρογόνων LDL υποκλασμάτων. Τέλος, στους ασθενείς που έλαβαν το συνδυασμό βαλσαρτάνης με HCTZ παρατηρήθηκε μια μείωση της συγκέντρωσης της χοληστερόλης των μικρών HDL υποκλασμάτων παρατήρηση που μένει να διευκρινιστεί κατά πόσο αποτελεί ευεργετική πλειοτροπική δράση του συγκεκριμένου φαρμακευτικού συνδυασμού ή δυσμενή επίδραση στο προφίλ των υποκλασμάτων της HDL.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: Η βαλσαρτάνη, η αμλοδιπίνη και η HCTZ είναι φάρμακα τα οποία αποδεδειγμένα μειώνουν τα επίπεδα της αρτηριακής πίεσης, αλλά εμφανίζουν διαφορές όσον αφορά την επίδρασή τους σε ποικίλες μεταβολικές παραμέτρους.

Σκοπός της μελέτης: Σκοπός της μελέτης ήταν να εκτιμηθεί εάν ο σταθερός συνδυασμός βαλσαρτάνης / αμλοδιπίνης (160/5 mg) υπερέχει έναντι του συνδυασμού βαλσαρτάνης / υδροχλωροθειαζίδης (160/12,5 mg) όσον αφορά τη ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης και την επίδραση στις μεταβολικές παραμέτρους.

Υλικό και μέθοδοι: Στη μελέτη συμμετείχαν 90 ασθενείς με ιδιοπαθή αρτηριακή υπέρταση, οι οποίοι τυχαιοποιήθηκαν σε βαλσαρτάνη (160 mg) και αμλοδιπίνη (5mg) (ομάδα VA) ή σε βαλσαρτάνη (160mg) και HCTZ (12,5mg) (ομάδα VH). Πριν από την έναρξη της θεραπείας, καθώς και μετά από 16 εβδομάδες αγωγής προσδιορίστηκαν οι μεταβολικές παράμετροι στον ορό των ασθενών.

Αποτελέσματα: Συνολικά 60 ασθενείς ολοκλήρωσαν τη μελέτη (30 στην ομάδα VA και 30 στην ομάδα VH). Η χορήγηση του συνδυασμού VH συνοδεύτηκε από μια μεγαλύτερη τάση μείωσης του GFR και μια στατιστικά σημαντική ($p < 0,05$) αύξηση της νεφρικής απέκκρισης α -1 μικροσφαιρίνης έναντι της χορήγησης του συνδυασμού VA. Όσον αφορά το μεταβολισμό των υδατανθράκων, όπως αυτός εκτιμήθηκε με τον υπολογισμό της γλυκόζης ορού νηστείας, της ινσουλίνης και του δείκτη HOMA-IR, δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές μεταβολές σε καμία από τις δύο ομάδες ασθενών της μελέτης. Η χορήγηση του συνδυασμού VH οδήγησε σε αύξηση των TRG νηστείας κατά 9% ($p < 0,05$) και σε μείωση της HDL-C κατά 5% ($p < 0,05$) με τις μεταβολές αυτές να είναι στατιστικά σημαντικές κατά τη

σύγκριση με την ομάδα VA. Στους ασθενείς της ομάδας VH παρατηρήθηκε αύξηση της συγκέντρωσης της χοληστερόλης των μικρών πυκνών LDL σωματιδίων, τα οποία αποτελούν το κατεξοχήν αθηρογόνο υποκλάσμα της LDL-C, και μείωση της χοληστερόλης των μεγάλων LDL σωματιδίων, ενώ στους ασθενείς της ομάδας VA δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές στα υποκλάσματα της LDL-C. Επίσης, η χορήγηση του συνδυασμού VH οδήγησε σε μείωση της χοληστερόλης των μικρών και ενδιάμεσων HDL σωματιδίων ενώ η χορήγηση του συνδυασμού VA δεν προκάλεσε σημαντικές μεταβολές στα υποκλάσματα της HDL-C. Τέλος, διαπιστώθηκε αύξηση της ενεργότητας της LpPLA2 κατά 12,6% στην ομάδα VH και μείωσή της κατά 9,9% στην ομάδα VA.

Συμπέρασμα: Η χορήγηση του συνδυασμού VH σε υπερτασικούς ασθενείς προκαλεί ποικίλες μεταβολές στις μεταβολικές παραμέτρους σε σύγκριση με τη χορήγηση του συνδυασμού VA.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΗΝ ΑΓΓΛΙΚΗ ΓΛΩΣΣΑ

Comparative effects of fixed combinations of valsartan with either hydrochlorothiazide or amlodipine on blood pressure control and on actions beyond blood pressure reduction, Christogiannis Leonidas

Abstract

Background: Epidemiological studies have clearly shown that the risk of cardiovascular (CV) events increases as blood pressure (BP) increases. There is also evidence from long-term studies that showed that for every 20/10 mm Hg increase in BP, beginning at 115/75 mm Hg, the risk of CV death doubles. Rapid BP control has been reported to be essential in hypertensive patients at high CV disease risk.

Current evidence favors BP lowering as a major mechanism of the beneficial effects of antihypertensive therapy on CV events. However, many preclinical and small studies with surrogate end points have suggested that there should be “benefits beyond BP control” with angiotensin-converting enzyme inhibitors (ACEIs), angiotensin receptor blockers (ARBs), and/or calcium channel blockers (CCBs). In addition, a number of trials have demonstrated reduction in new-onset diabetes with newer therapies based on renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) modulation or calcium channel blockade compared with placebo or therapies with diuretics or b-blockers.

Of all forms of hypertension, stage 1 is the most prevalent and has the highest rate of mortality. It is important to note that patients with stage 1 hypertension are typically committed to 30–40 years of antihypertensive medication. Over such a long

period, the secondary effects of antihypertensive drugs on various BP-independent CV risk factors are likely to become manifest. Considering that multidrug therapy is required in almost all hypertensive patients it would be interesting to know whether a combination of particular drug classes is really superior to any other.

Objective: to evaluate whether a fixed combination of valsartan/hydrochlorothiazide (160/12.5 mg) would be superior to a valsartan/amlodipine (160/5 mg) combination in controlling BP and in inducing favourable metabolic effects beyond lipid lowering.

Materials and methods: Ninety patients with essential hypertension were randomized by 1:1 to valsartan 160mg/day plus amlodipine 5mg/day (group VA) or valsartan 160 mg/day plus hydrochlorothiazide 12,5 mg/day (group VH). At baseline as well as 16 weeks post-treatment the following parameters were determined: 1) the serum lipid profile, 2) non-lipid metabolic variables (serum uric acid, fasting glucose, insulin and HOMA-IR (Homeostasis Modes Assessment; as a surrogate of insulin resistance) levels, 3) renal function [assessed by serum creatinine (SCr) levels, the estimated glomerular filtration rate (eGFR) and proteinuria], 4) the cholesterol concentration of different size and density lipoprotein [low density lipoproteins (LDL) and high density lipoproteins (HDL)] particles, 5) the mean LDL size, 6) the total plasma enzyme activity of lipoprotein-associated phospholipase A2 (LpPLA2).

Results: Sixty patients (30 in the VA group and 30 in the VH group) completed the study protocol. In both groups renal excretions of albumin and immunoglobulin G, as surrogates of glomerular proteinuria, were unchanged. The VH combination slightly reduced GFR and significant increased the a1-microglobulin renal excretion rate.

The VH combination increased TRG by 9% ($p < 0,05$), reduced HDL-C by 5% ($p < 0,05$), increased the cholesterol concentration of small-dense LDL subfractions and reduced the cholesterol concentration of the small HDL subfractions, whereas the VA combination had a neutral effect on those parameters. The VH combination increased the activity of LpPLA2 by 12,6% whereas the VA combination decreased it by 9,9%.

Conclusion: The VH combination exerts various actions on the metabolic parameters of hypertensive patients, while the VA combination asks a neutral effect on those parameters.

Δημοσίευση που προέκυψε από την παρούσα διδακτορική διατριβή :

1. **Christogiannis LG**, Kostapanos MS, Tellis CC, Milionis HJ, Tselepis AD, Elisaf MS.

Distinct effects of fixed combinations of valsartan with either amlodipine or hydrochlorothiazide on lipoprotein subfraction profile in patients with hypertension.

J Hum Hypertens. 2013 Jan;27(1):44-50. PMID: 22129607

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Booth J. A short history of blood pressure measurement. *Proceedings of the Royal Society of Medicine*. 1977;70(11):793-9.
2. Report of the Joint National Committee on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. A cooperative study. *Jama*. 1977;237(3):255-61.
3. Chow CK, Teo KK, Rangarajan S, et al. Prevalence, awareness, treatment, and control of hypertension in rural and urban communities in high-, middle-, and low-income countries. *Jama*. 2013;310(9):959-68.
4. Egan BM, Zhao Y, Axon RN. US trends in prevalence, awareness, treatment, and control of hypertension, 1988-2008. *Jama*. 2010;303(20):2043-50.
5. Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, et al. Worldwide prevalence of hypertension: a systematic review. *Journal of hypertension*. 2004;22(1):11-9.
6. Taylor J. The hypertension detection and follow-up program: a progress report. *Circulation research*. 1977;40(5 Suppl 1):1106-9.
7. Carretero OA, Oparil S. Essential hypertension. Part I: definition and etiology. *Circulation*. 2000;101(3):329-35.
8. Pullalarevu R, Akbar G, Teehan G. Secondary Hypertension, Issues in Diagnosis and Treatment. Primary care. 2014;41(4):749-64.
9. MacMahon S, Peto R, Cutler J, et al. Blood pressure, stroke, and coronary heart disease. Part 1, Prolonged differences in blood pressure: prospective observational studies corrected for the regression dilution bias. *Lancet*. 1990;335(8692):765-74.
10. Kannel WB. Blood pressure as a cardiovascular risk factor: prevention and treatment. *Jama*. 1996;275(20):1571-6.
11. Assmann G, Schulte H. The Prospective Cardiovascular Munster (PROCAM) study: prevalence of hyperlipidemia in persons with hypertension and/or diabetes mellitus and the relationship to coronary heart disease. *American heart journal*. 1988;116(6 Pt 2):1713-24.
12. Walker WG, Neaton JD, Cutler JA, et al. Renal function change in hypertensive members of the Multiple Risk Factor Intervention Trial. Racial and treatment effects. The MRFIT Research Group. *Jama*. 1992;268(21):3085-91.
13. Lloyd-Jones DM, Wang TJ, Leip EP, et al. Lifetime risk for development of atrial fibrillation: the Framingham Heart Study. *Circulation*. 2004;110(9):1042-6.
14. Cornoni-Huntley J, LaCroix AZ, Havlik RJ. Race and sex differentials in the impact of hypertension in the United States. The National Health and Nutrition Examination Survey I Epidemiologic Follow-up Study. *Archives of internal medicine*. 1989;149(4):780-8.
15. Brennan PJ, Greenberg G, Miall WE, et al. Seasonal variation in arterial blood pressure. *British medical journal (Clinical research ed)*. 1982;285(6346):919-23.
16. Brown CD, Higgins M, Donato KA, et al. Body mass index and the prevalence of hypertension and dyslipidemia. *Obesity research*. 2000;8(9):605-19.
17. Pescatello LS, Franklin BA, Fagard R, et al. American College of Sports Medicine position stand. Exercise and hypertension. *Medicine and science in sports and exercise*. 2004;36(3):533-53.
18. Colhoun HM, Hemingway H, Poulter NR. Socio-economic status and blood pressure: an overview analysis. *Journal of human hypertension*. 1998;12(2):91-110.
19. Elliott P, Stamler J, Nichols R, et al. Intersalt revisited: further analyses of 24 hour sodium excretion and blood pressure within and across populations. Intersalt Cooperative Research Group. *BMJ (Clinical research ed)*. 1996;312(7041):1249-53.
20. Ascherio A, Rimm EB, Giovannucci EL, et al. A prospective study of nutritional factors and hypertension among US men. *Circulation*. 1992;86(5):1475-84.
21. Sacks FM, Svetkey LP, Vollmer WM, et al. Effects on blood pressure of reduced dietary sodium and the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) diet. DASH-Sodium Collaborative Research Group. *The New England journal of medicine*. 2001;344(1):3-10.

22. Mongeau JG, Biron P, Sing CF. The influence of genetics and household environment upon the variability of normal blood pressure: the Montreal Adoption Survey. *Clinical and experimental hypertension Part A, Theory and practice*. 1986;8(4-5):653-60.
23. Harrap SB, Stebbing M, Hopper JL, et al. Familial patterns of covariation for cardiovascular risk factors in adults: The Victorian Family Heart Study. *American journal of epidemiology*. 2000;152(8):704-15.
24. Messerli FH, De Carvalho JG, Christie B, et al. Systemic and regional hemodynamics in low, normal and high cardiac output borderline hypertension. *Circulation*. 1978;58(3 Pt 1):441-8.
25. Bulbulian R, Bitters D. Blood pressure responses to acute exercise in type A and B females and males. *Physiology & behavior*. 1996;60(4):1177-82.
26. Omvik P. How smoking affects blood pressure. *Blood pressure*. 1996;5(2):71-7.
27. Hall JE-, Guyton AC. *Guyton and Hall textbook of medical physiology* / John E. Hall. 2011.
28. Oparil S, Zaman MA, Calhoun DA. Pathogenesis of hypertension. *Annals of internal medicine*. 2003;139(9):761-76.
29. Ezzati M, Lopez AD, Rodgers A, et al. Selected major risk factors and global and regional burden of disease. *Lancet*. 2002;360(9343):1347-60.
30. Berry JD, Dyer A, Cai X, et al. Lifetime risks of cardiovascular disease. *The New England journal of medicine*. 2012;366(4):321-9.
31. Mancia G, Fagard R, Narkiewicz K, et al. 2013 ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension: the Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *Journal of hypertension*. 2013;31(7):1281-357.
32. Lauer MS. Primary prevention of atherosclerotic cardiovascular disease: the high public burden of low individual risk. *Jama*. 2007;297(12):1376-8.
33. Borghi C, Dormi A, Ambrosioni E, et al. Relative role of systolic, diastolic and pulse pressure as risk factors for cardiovascular events in the Brisighella Heart Study. *Journal of hypertension*. 2002;20(9):1737-42.
34. Vasani RS, Levy D. The role of hypertension in the pathogenesis of heart failure. A clinical mechanistic overview. *Archives of internal medicine*. 1996;156(16):1789-96.
35. Levy D, Larson MG, Vasani RS, et al. The progression from hypertension to congestive heart failure. *Jama*. 1996;275(20):1557-62.
36. Lorell BH, Carabello BA. Left ventricular hypertrophy: pathogenesis, detection, and prognosis. *Circulation*. 2000;102(4):470-9.
37. Goldstein LB, Bushnell CD, Adams RJ, et al. Guidelines for the primary prevention of stroke: a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 2011;42(2):517-84.
38. Mancia G, De Backer G, Dominiczak A, et al. 2007 Guidelines for the Management of Arterial Hypertension: The Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *Journal of hypertension*. 2007;25(6):1105-87.
39. Mancia G, Laurent S, Agabiti-Rosei E, et al. Reappraisal of European guidelines on hypertension management: a European Society of Hypertension Task Force document. *Journal of hypertension*. 2009;27(11):2121-58.
40. Pantoni L. Cerebral small vessel disease: from pathogenesis and clinical characteristics to therapeutic challenges. *The Lancet Neurology*. 2010;9(7):689-701.
41. Henskens LH, van Oostenbrugge RJ, Kroon AA, et al. Detection of silent cerebrovascular disease refines risk stratification of hypertensive patients. *Journal of hypertension*. 2009;27(4):846-53.

42. Mortality after 10 1/2 years for hypertensive participants in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. *Circulation*. 1990;82(5):1616-28.
43. Chalmers J, Todd A, Chapman N, et al. International Society of Hypertension (ISH): statement on blood pressure lowering and stroke prevention. *Journal of hypertension*. 2003;21(4):651-63.
44. Lacolley P, Challande P, Osborne-Pellegrin M, et al. Genetics and pathophysiology of arterial stiffness. *Cardiovascular research*. 2009;81(4):637-48.
45. Lakatta EG, Levy D. Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises: Part I: aging arteries: a "set up" for vascular disease. *Circulation*. 2003;107(1):139-46.
46. Laurent S, Boutouyrie P, Lacolley P. Structural and genetic bases of arterial stiffness. *Hypertension*. 2005;45(6):1050-5.
47. Laurent S, Cockcroft J, Van Bortel L, et al. Expert consensus document on arterial stiffness: methodological issues and clinical applications. *European heart journal*. 2006;27(21):2588-605.
48. Laurent S, Briet M, Boutouyrie P. Arterial stiffness as surrogate end point: needed clinical trials. *Hypertension*. 2012;60(2):518-22.
49. Intengan HD, Schiffrin EL. Vascular remodeling in hypertension: roles of apoptosis, inflammation, and fibrosis. *Hypertension*. 2001;38(3 Pt 2):581-7.
50. Luscher TF, Barton M. Biology of the endothelium. *Clinical cardiology*. 1997;20(11 Suppl 2):II-3-10.
51. Quyyumi AA, Cannon RO, 3rd, Panza JA, et al. Endothelial dysfunction in patients with chest pain and normal coronary arteries. *Circulation*. 1992;86(6):1864-71.
52. Treasure CB, Manoukian SV, Klein JL, et al. Epicardial coronary artery responses to acetylcholine are impaired in hypertensive patients. *Circulation research*. 1992;71(4):776-81.
53. Taddei S, Virdis A, Ghiadoni L, et al. Vitamin C improves endothelium-dependent vasodilation by restoring nitric oxide activity in essential hypertension. *Circulation*. 1998;97(22):2222-9.
54. Ghiadoni L, Magagna A, Versari D, et al. Different effect of antihypertensive drugs on conduit artery endothelial function. *Hypertension*. 2003;41(6):1281-6.
55. Suwaidi JA, Hamasaki S, Higano ST, et al. Long-term follow-up of patients with mild coronary artery disease and endothelial dysfunction. *Circulation*. 2000;101(9):948-54.
56. Epstein FH, Agmon Y, Brezis M. Physiology of renal hypoxia. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1994;718:72-81; discussion -2.
57. Anderson S, Meyer TW, Rennke HG, et al. Control of glomerular hypertension limits glomerular injury in rats with reduced renal mass. *The Journal of clinical investigation*. 1985;76(2):612-9.
58. Meyrier A, Simon P. Nephroangiosclerosis and hypertension: things are not as simple as you might think. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 1996;11(11):2116-20.
59. Grosso A, Veglio F, Porta M, et al. Hypertensive retinopathy revisited: some answers, more questions. *The British journal of ophthalmology*. 2005;89(12):1646-54.
60. Wong TY, Mitchell P. Hypertensive retinopathy. *The New England journal of medicine*. 2004;351(22):2310-7.
61. James PA, Oparil S, Carter BL, et al. 2014 evidence-based guideline for the management of high blood pressure in adults: report from the panel members appointed to the Eighth Joint National Committee (JNC 8). *Jama*. 2014;311(5):507-20.
62. Appel LJ, Brands MW, Daniels SR, et al. Dietary approaches to prevent and treat hypertension: a scientific statement from the American Heart Association. *Hypertension*. 2006;47(2):296-308.

63. Hackam DG, Quinn RR, Ravani P, et al. The 2013 Canadian Hypertension Education Program recommendations for blood pressure measurement, diagnosis, assessment of risk, prevention, and treatment of hypertension. *The Canadian journal of cardiology*. 2013;29(5):528-42.
64. JBS 2: Joint British Societies' guidelines on prevention of cardiovascular disease in clinical practice. *Heart (British Cardiac Society)*. 2005;91 Suppl 5:v1-52.
65. Brook RD, Appel LJ, Rubenfire M, et al. Beyond medications and diet: alternative approaches to lowering blood pressure: a scientific statement from the American heart association. *Hypertension*. 2013;61(6):1360-83.
66. Must A, Spadano J, Coakley EH, et al. The disease burden associated with overweight and obesity. *Jama*. 1999;282(16):1523-9.
67. Stamler R, Stamler J, Riedlinger WF, et al. Weight and blood pressure. Findings in hypertension screening of 1 million Americans. *Jama*. 1978;240(15):1607-10.
68. Doll S, Paccaud F, Bovet P, et al. Body mass index, abdominal adiposity and blood pressure: consistency of their association across developing and developed countries. *International journal of obesity and related metabolic disorders : journal of the International Association for the Study of Obesity*. 2002;26(1):48-57.
69. Jordan J, Yumuk V, Schlaich M, et al. Joint statement of the European Association for the Study of Obesity and the European Society of Hypertension: obesity and difficult to treat arterial hypertension. *Journal of hypertension*. 2012;30(6):1047-55.
70. Neter JE, Stam BE, Kok FJ, et al. Influence of weight reduction on blood pressure: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Hypertension*. 2003;42(5):878-84.
71. Dahl L. Possible role of salt intake in the development of essential hypertension. In: Cottier P BK, editor. *Essential Hypertension—An International Symposium*. Berlin: Springer-Verlag; 1960. p. 53-65.
72. Aburto NJ, Ziolkovska A, Hooper L, et al. Effect of lower sodium intake on health: systematic review and meta-analyses. *BMJ (Clinical research ed)*. 2013;346:f1326.
73. Eckel RH, Jakicic JM, Ard JD, et al. 2013 AHA/ACC guideline on lifestyle management to reduce cardiovascular risk: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation*. 2014;129(25 Suppl 2):S76-99.
74. Intersalt: an international study of electrolyte excretion and blood pressure. Results for 24 hour urinary sodium and potassium excretion. Intersalt Cooperative Research Group. *BMJ (Clinical research ed)*. 1988;297(6644):319-28.
75. Aburto NJ, Hanson S, Gutierrez H, et al. Effect of increased potassium intake on cardiovascular risk factors and disease: systematic review and meta-analyses. *BMJ (Clinical research ed)*. 2013;346:f1378.
76. Staessen J, Fagard R, Lijnen P, et al. A population study on the relationship between blood pressure and the excretion of urinary cations. *Journal of cardiovascular pharmacology*. 1984;6 Suppl 1:S210-4.
77. Van Leer EM, Seidell JC, Kromhout D. Dietary calcium, potassium, magnesium and blood pressure in the Netherlands. *International journal of epidemiology*. 1995;24(6):1117-23.
78. McGrane MM, Essery E, Obbagy J, et al. Dairy Consumption, Blood Pressure, and Risk of Hypertension: An Evidence-Based Review of Recent Literature. *Current cardiovascular risk reports*. 2011;5(4):287-98.
79. Dickinson HO, Nicolson DJ, Campbell F, et al. Magnesium supplementation for the management of essential hypertension in adults. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2006(3):CD004640.

80. Juraschek SP, Guallar E, Appel LJ, et al. Effects of vitamin C supplementation on blood pressure: a meta-analysis of randomized controlled trials. *The American journal of clinical nutrition*. 2012;95(5):1079-88.
81. Ried K, Sullivan TR, Fakler P, et al. Effect of cocoa on blood pressure. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2012;8:CD008893.
82. Craig WJ, Mangels AR. Position of the American Dietetic Association: vegetarian diets. *Journal of the American Dietetic Association*. 2009;109(7):1266-82.
83. Psaltopoulou T, Naska A, Orfanos P, et al. Olive oil, the Mediterranean diet, and arterial blood pressure: the Greek European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) study. *The American journal of clinical nutrition*. 2004;80(4):1012-8.
84. Miller ER, 3rd, Erlinger TP, Appel LJ. The effects of macronutrients on blood pressure and lipids: an overview of the DASH and OmniHeart trials. *Current atherosclerosis reports*. 2006;8(6):460-5.
85. van Leer EM, Seidell JC, Kromhout D. Differences in the association between alcohol consumption and blood pressure by age, gender, and smoking. *Epidemiology (Cambridge, Mass)*. 1994;5(6):576-82.
86. Gillman MW, Cook NR, Evans DA, et al. Relationship of alcohol intake with blood pressure in young adults. *Hypertension*. 1995;25(5):1106-10.
87. Fogari R, Zoppi A, Lusardi P, et al. Cigarette smoking and blood pressure in a worker population: a cross-sectional study. *Journal of cardiovascular risk*. 1996;3(1):55-9.
88. Primatesta P, Falaschetti E, Gupta S, et al. Association between smoking and blood pressure: evidence from the health survey for England. *Hypertension*. 2001;37(2):187-93.
89. Beyer KH. Chlorothiazide. How the thiazides evolved as antihypertensive therapy. *Hypertension*. 1993;22(3):388-91.
90. Ellison DH, Velazquez H, Wright FS. Thiazide-sensitive sodium chloride cotransport in early distal tubule. *The American journal of physiology*. 1987;253(3 Pt 2):F546-54.
91. Adroge HJ, Madias NE. Sodium and potassium in the pathogenesis of hypertension. *The New England journal of medicine*. 2007;356(19):1966-78.
92. Conway J, Lauwers P. Hemodynamic and hypotensive effects of long-term therapy with chlorothiazide. *Circulation*. 1960;21:21-7.
93. van Brummelen P, Man in 't Veld AJ, Schalekamp MA. Hemodynamic changes during long-term thiazide treatment of essential hypertension in responders and nonresponders. *Clinical pharmacology and therapeutics*. 1980;27(3):328-36.
94. Lake CR, Ziegler MG, Coleman MD, et al. Hydrochlorothiazide-induced sympathetic hyperactivity in hypertensive patients. *Clinical pharmacology and therapeutics*. 1979;26(4):428-32.
95. Tarazi RC, Dustan HP, Frohlich ED. Long-term thiazide therapy in essential hypertension. Evidence for persistent alteration in plasma volume and renin activity. *Circulation*. 1970;41(4):709-17.
96. Reungjui S, Pratipanawatr T, Johnson RJ, et al. Do thiazides worsen metabolic syndrome and renal disease? The pivotal roles for hyperuricemia and hypokalemia. *Current opinion in nephrology and hypertension*. 2008;17(5):470-6.
97. Savage PJ, Pressel SL, Curb JD, et al. Influence of long-term, low-dose, diuretic-based, antihypertensive therapy on glucose, lipid, uric acid, and potassium levels in older men and women with isolated systolic hypertension: The Systolic Hypertension in the Elderly Program. SHEP Cooperative Research Group. *Archives of internal medicine*. 1998;158(7):741-51.
98. Major outcomes in high-risk hypertensive patients randomized to angiotensin-converting enzyme inhibitor or calcium channel blocker vs diuretic: The Antihypertensive and Lipid-Lowering Treatment to Prevent Heart Attack Trial (ALLHAT). *Jama*. 2002;288(23):2981-97.

99. Elliott WJ, Meyer PM. Incident diabetes in clinical trials of antihypertensive drugs: a network meta-analysis. *Lancet*. 2007;369(9557):201-7.
100. Cooper-DeHoff RM, Wen S, Beitelshes AL, et al. Impact of abdominal obesity on incidence of adverse metabolic effects associated with antihypertensive medications. *Hypertension*. 2010;55(1):61-8.
101. Barzilay JI, Davis BR, Cutler JA, et al. Fasting glucose levels and incident diabetes mellitus in older nondiabetic adults randomized to receive 3 different classes of antihypertensive treatment: a report from the Antihypertensive and Lipid-Lowering Treatment to Prevent Heart Attack Trial (ALLHAT). *Archives of internal medicine*. 2006;166(20):2191-201.
102. Martin BJ, Milligan K. Diuretic-associated hypomagnesemia in the elderly. *Archives of internal medicine*. 1987;147(10):1768-71.
103. Cocco G, Iselin HU, Strozzi C, et al. Magnesium depletion in patients on long-term chlorthalidone therapy for essential hypertension. *European journal of clinical pharmacology*. 1987;32(4):335-8.
104. Ayvaz G, Balos Toruner F, Karakoc A, et al. Acute and chronic effects of different concentrations of free fatty acids on the insulin secreting function of islets. *Diabetes & metabolism*. 2002;28(6 Pt 2):3S7-12; discussion 3S108-12.
105. Carter BL, Einhorn PT, Brands M, et al. Thiazide-induced dysglycemia: call for research from a working group from the national heart, lung, and blood institute. *Hypertension*. 2008;52(1):30-6.
106. Fuisz RE, Lauler DP, Cohen P. Diuretic-induced hyponatremia and sustained antidiuresis. *The American journal of medicine*. 1962;33:783-91.
107. Abramow M, Cogan E. Clinical aspects and pathophysiology of diuretic-induced hyponatremia. *Advances in nephrology from the Necker Hospital*. 1984;13:1-28.
108. Sonnenblick M, Friedlander Y, Rosin AJ. Diuretic-induced severe hyponatremia. Review and analysis of 129 reported patients. *Chest*. 1993;103(2):601-6.
109. Zillich AJ, Garg J, Basu S, et al. Thiazide diuretics, potassium, and the development of diabetes: a quantitative review. *Hypertension*. 2006;48(2):219-24.
110. Vandell AG, McDonough CW, Gong Y, et al. Hydrochlorothiazide-induced hyperuricaemia in the pharmacogenomic evaluation of antihypertensive responses study. *Journal of internal medicine*. 2014;276(5):486-97.
111. Reungjui S, Hu H, Mu W, et al. Thiazide-induced subtle renal injury not observed in states of equivalent hypokalemia. *Kidney international*. 2007;72(12):1483-92.
112. Ellison DH, Loffing J. Thiazide effects and adverse effects: insights from molecular genetics. *Hypertension*. 2009;54(2):196-202.
113. Welling PG. Pharmacokinetics of the thiazide diuretics. *Biopharmaceutics & drug disposition*. 1986;7(6):501-35.
114. Carter BL, Ernst ME, Cohen JD. Hydrochlorothiazide versus chlorthalidone: evidence supporting their interchangeability. *Hypertension*. 2004;43(1):4-9.
115. Al Badarin FJ, Abuannadi MA, Lavie CJ, et al. Evidence-based diuretic therapy for improving cardiovascular prognosis in systemic hypertension. *The American journal of cardiology*. 2011;107(8):1178-84.
116. Caruso FS, Szabadi RR, Vukovich RA. Pharmacokinetics and clinical pharmacology of indapamide. *American heart journal*. 1983;106(1 Pt 2):212-20.
117. Cooney D, Milfred-LaForest S, Rahman M. Diuretics for hypertension: Hydrochlorothiazide or chlorthalidone? *Cleveland Clinic journal of medicine*. 2015;82(8):527-33.
118. Gisvold Wa. Wilson and Gisvold's Textbook of ORGANIC MEDICINAL AND PHARMACEUTICAL CHEMISTRY. 12th ed: Lippincott Williams & Wilkins; 2011.

119. Hayashi K, Wakino S, Sugano N, et al. Ca²⁺ channel subtypes and pharmacology in the kidney. *Circulation research*. 2007;100(3):342-53.
120. Tocci G, Battistoni A, Passerini J, et al. Calcium channel blockers and hypertension. *Journal of cardiovascular pharmacology and therapeutics*. 2015;20(2):121-30.
121. Staessen JA, Fagard R, Thijs L, et al. Randomised double-blind comparison of placebo and active treatment for older patients with isolated systolic hypertension. The Systolic Hypertension in Europe (Syst-Eur) Trial Investigators. *Lancet*. 1997;350(9080):757-64.
122. Liu L, Zhang Y, Liu G, et al. The Felodipine Event Reduction (FEVER) Study: a randomized long-term placebo-controlled trial in Chinese hypertensive patients. *Journal of hypertension*. 2005;23(12):2157-72.
123. Dahlof B, Sever PS, Poulter NR, et al. Prevention of cardiovascular events with an antihypertensive regimen of amlodipine adding perindopril as required versus atenolol adding bendroflumethiazide as required, in the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial-Blood Pressure Lowering Arm (ASCOT-BPLA): a multicentre randomised controlled trial. *Lancet*. 2005;366(9489):895-906.
124. Julius S, Kjeldsen SE, Weber M, et al. Outcomes in hypertensive patients at high cardiovascular risk treated with regimens based on valsartan or amlodipine: the VALUE randomised trial. *Lancet*. 2004;363(9426):2022-31.
125. Jamerson K, Weber MA, Bakris GL, et al. Benazepril plus amlodipine or hydrochlorothiazide for hypertension in high-risk patients. *The New England journal of medicine*. 2008;359(23):2417-28.
126. Coca A, Mazon P, Aranda P, et al. Role of dihydropyridinic calcium channel blockers in the management of hypertension. *Expert review of cardiovascular therapy*. 2013;11(1):91-105.
127. Weir MR, Rosenberger C, Fink JC. Pilot study to evaluate a water displacement technique to compare effects of diuretics and ACE inhibitors to alleviate lower extremity edema due to dihydropyridine calcium antagonists. *American journal of hypertension*. 2001;14(9 Pt 1):963-8.
128. Elkayam U, Amin J, Mehra A, et al. A prospective, randomized, double-blind, crossover study to compare the efficacy and safety of chronic nifedipine therapy with that of isosorbide dinitrate and their combination in the treatment of chronic congestive heart failure. *Circulation*. 1990;82(6):1954-61.
129. Cohn JN, Ziesche S, Smith R, et al. Effect of the calcium antagonist felodipine as supplementary vasodilator therapy in patients with chronic heart failure treated with enalapril: V-HeFT III. Vasodilator-Heart Failure Trial (V-HeFT) Study Group. *Circulation*. 1997;96(3):856-63.
130. Kailasam MT, Parmer RJ, Cervenka JH, et al. Divergent effects of dihydropyridine and phenylalkylamine calcium channel antagonist classes on autonomic function in human hypertension. *Hypertension*. 1995;26(1):143-9.
131. Robles NR, Cerezo I, Hernandez-Gallego R. Renin-angiotensin system blocking drugs. *Journal of cardiovascular pharmacology and therapeutics*. 2014;19(1):14-33.
132. Ferreira SH. A BRADYKININ-POTENTIATING FACTOR (BPF) PRESENT IN THE VENOM OF BOTHROPS JARARCA. *British journal of pharmacology and chemotherapy*. 1965;24:163-9.
133. Komajda M, Wimart MC. Angiotensin converting enzyme inhibition: from viper to patient. *Heart (British Cardiac Society)*. 2000;84 Suppl 1:i11-4:discussion i50.
134. Gisvold Wa. Wilson and Gisvold's Textbook of ORGANIC MEDICINAL AND PHARMACEUTICAL CHEMISTRY. 12th ed: Lippincott Williams & Wilkins 2011. 607-9 p.
135. Brown NJ, Vaughan DE. Angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Circulation*. 1998;97(14):1411-20.

136. Dr Claudio Borghi EA. Zofenopril: A Review of the Evidence of its Benefits in Hypertension and Acute Myocardial Infarction. *Clinical Drug Investigation*. 2000;20(5):371-84.
137. Kloke HJ, Ambros RJ, Van Hamersvelt HW, et al. Pharmacokinetics and haemodynamic effects of the angiotensin converting enzyme inhibitor cilazapril in hypertensive patients with normal and impaired renal function. *British journal of clinical pharmacology*. 1996;42(5):615-20.
138. Harder S, Thurmann PA, Ungethum W. Single dose and steady state pharmacokinetics and pharmacodynamics of the ACE-inhibitor imidapril in hypertensive patients. *British journal of clinical pharmacology*. 1998;45(4):377-80.
139. Louis WJ, Workman BS, Conway EL, et al. Single-dose and steady-state pharmacokinetics and pharmacodynamics of perindopril in hypertensive subjects. *Journal of cardiovascular pharmacology*. 1992;20(3):505-11.
140. Dennis A. Tighe MTT, Jennifer L. Donovan. *Cardiology Drug Guide Jones and Bartlett Publishers*; 2010.
141. William H. Frishman AC-L, Julie Chen. *Current Cardiovascular Drugs*. 3rd ed: Current Medicine; 2000.
142. van Vark LC, Bertrand M, Akkerhuis KM, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibitors reduce mortality in hypertension: a meta-analysis of randomized clinical trials of renin-angiotensin-aldosterone system inhibitors involving 158,998 patients. *European heart journal*. 2012;33(16):2088-97.
143. Wing LM, Reid CM, Ryan P, et al. A comparison of outcomes with angiotensin-converting--enzyme inhibitors and diuretics for hypertension in the elderly. *The New England journal of medicine*. 2003;348(7):583-92.
144. Bulpitt CJ, Beckett NS, Cooke J, et al. Results of the pilot study for the Hypertension in the Very Elderly Trial. *Journal of hypertension*. 2003;21(12):2409-17.
145. Yui Y, Sumiyoshi T, Kodama K, et al. Comparison of nifedipine retard with angiotensin converting enzyme inhibitors in Japanese hypertensive patients with coronary artery disease: the Japan Multicenter Investigation for Cardiovascular Diseases-B (JMIC-B) randomized trial. *Hypertension research : official journal of the Japanese Society of Hypertension*. 2004;27(3):181-91.
146. Patel A, MacMahon S, Chalmers J, et al. Effects of a fixed combination of perindopril and indapamide on macrovascular and microvascular outcomes in patients with type 2 diabetes mellitus (the ADVANCE trial): a randomised controlled trial. *Lancet*. 2007;370(9590):829-40.
147. Beckett NS, Peters R, Fletcher AE, et al. Treatment of hypertension in patients 80 years of age or older. *The New England journal of medicine*. 2008;358(18):1887-98.
148. Aulakh GK, Sodhi RK, Singh M. An update on non-peptide angiotensin receptor antagonists and related RAAS modulators. *Life sciences*. 2007;81(8):615-39.
149. William H. Frishman AC-L, Julie Chen. *Current Cardiovascular Drugs* 3rd ed: Current Medicine 2000. 57 p.
150. Grossman E, Peleg E, Carroll J, et al. Hemodynamic and humoral effects of the angiotensin II antagonist losartan in essential hypertension. *American journal of hypertension*. 1994;7(12):1041-4.
151. Angeli F, Verdecchia P, Pascucci C, et al. Pharmacokinetic evaluation and clinical utility of azilsartan medoxomil for the treatment of hypertension. *Expert opinion on drug metabolism & toxicology*. 2013;9(3):379-85.
152. Yusuf S, Teo KK, Pogue J, et al. Telmisartan, ramipril, or both in patients at high risk for vascular events. *The New England journal of medicine*. 2008;358(15):1547-59.

153. Israili ZH, Hall WD. Cough and angioneurotic edema associated with angiotensin-converting enzyme inhibitor therapy. A review of the literature and pathophysiology. *Annals of internal medicine*. 1992;117(3):234-42.
154. Matchar DB, McCrory DC, Orlando LA, et al. Systematic review: comparative effectiveness of angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin II receptor blockers for treating essential hypertension. *Annals of internal medicine*. 2008;148(1):16-29.
155. Dicipinigaitis PV. Angiotensin-converting enzyme inhibitor-induced cough: ACCP evidence-based clinical practice guidelines. *Chest*. 2006;129(1 Suppl):169S-73S.
156. Dahlof B, Devereux RB, Kjeldsen SE, et al. Cardiovascular morbidity and mortality in the Losartan Intervention For Endpoint reduction in hypertension study (LIFE): a randomised trial against atenolol. *Lancet*. 2002;359(9311):995-1003.
157. Yusuf S, Teo K, Anderson C, et al. Effects of the angiotensin-receptor blocker telmisartan on cardiovascular events in high-risk patients intolerant to angiotensin-converting enzyme inhibitors: a randomised controlled trial. *Lancet*. 2008;372(9644):1174-83.
158. Jensen C, Herold P, Brunner HR. Aliskiren: the first renin inhibitor for clinical treatment. *Nature reviews Drug discovery*. 2008;7(5):399-410.
159. Brown MJ. Direct renin inhibition - a new way of targeting the renin system. *Journal of Renin-Angiotensin-Aldosterone System*. 2006;7(2 suppl):S7-S11.
160. Parving HH, Brenner BM, McMurray JJ, et al. Cardiorenal end points in a trial of aliskiren for type 2 diabetes. *The New England journal of medicine*. 2012;367(23):2204-13.
161. Messerli FH, Bangalore S. Half a century of hydrochlorothiazide: facts, fads, fiction, and follies. *The American journal of medicine*. 2011;124(10):896-9.
162. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, et al. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *Jama*. 2003;289(19):2560-72.
163. DiNicolantonio JJ. Hydrochlorothiazide: is it a wise choice? Expert opinion on pharmacotherapy. 2012;13(6):807-14.
164. Effects of treatment on morbidity in hypertension. 3. Influence of age, diastolic pressure, and prior cardiovascular disease; further analysis of side effects. *Circulation*. 1972;45(5):991-1004.
165. Leren P, Helgeland A. Oslo Hypertension Study. *Drugs*. 1986;31 Suppl 1:41-5.
166. Dorsch MP, Gillespie BW, Erickson SR, et al. Chlorthalidone reduces cardiovascular events compared with hydrochlorothiazide: a retrospective cohort analysis. *Hypertension*. 2011;57(4):689-94.
167. Bakris GL, Sarafidis PA, Weir MR, et al. Renal outcomes with different fixed-dose combination therapies in patients with hypertension at high risk for cardiovascular events (ACCOMPLISH): a prespecified secondary analysis of a randomised controlled trial. *Lancet*. 2010;375(9721):1173-81.
168. Sawicki PT, McGauran N. Have ALLHAT, ANBP2, ASCOT-BPLA, and so forth improved our knowledge about better hypertension care? *Hypertension*. 2006;48(1):1-7.
169. Madkour H, Gadallah M, Riveline B, et al. Indapamide is superior to thiazide in the preservation of renal function in patients with renal insufficiency and systemic hypertension. *The American journal of cardiology*. 1996;77(6):23B-5B.
170. Ernst ME, Neaton JD, Grimm RH, Jr., et al. Long-term effects of chlorthalidone versus hydrochlorothiazide on electrocardiographic left ventricular hypertrophy in the multiple risk factor intervention trial. *Hypertension*. 2011;58(6):1001-7.
171. Luo J, Gao X, Peng L, et al. Effects of hydrochlorothiazide on cardiac remodeling in a rat model of myocardial infarction-induced congestive heart failure. *European journal of pharmacology*. 2011;667(1-3):314-21.

172. Zhou MS, Schulman IH, Jaimes EA, et al. Thiazide diuretics, endothelial function, and vascular oxidative stress. *Journal of hypertension*. 2008;26(3):494-500.
173. Beermann B, Groschinsky-Grind M. Clinical pharmacokinetics of diuretics. *Clinical pharmacokinetics*. 1980;5(3):221-45.
174. Ernst ME, Moser M. Use of diuretics in patients with hypertension. *The New England journal of medicine*. 2009;361(22):2153-64.
175. Allen JH, McKenney JM, Stratton MA, et al. Antihypertensive effect of hydrochlorothiazide administered once or twice daily. *Clinical pharmacy*. 1982;1(3):239-43.
176. Hydrochlorothiazide: Drug information [Internet]. [cited 17-9-2015].
177. Administration) FUSFaD, Approval letter (amlodipine), 1999
178. Whelton PK, Barzilay J, Cushman WC, et al. Clinical outcomes in antihypertensive treatment of type 2 diabetes, impaired fasting glucose concentration, and normoglycemia: Antihypertensive and Lipid-Lowering Treatment to Prevent Heart Attack Trial (ALLHAT). *Archives of internal medicine*. 2005;165(12):1401-9.
179. Leenen FH, Nwachuku CE, Black HR, et al. Clinical events in high-risk hypertensive patients randomly assigned to calcium channel blocker versus angiotensin-converting enzyme inhibitor in the antihypertensive and lipid-lowering treatment to prevent heart attack trial. *Hypertension*. 2006;48(3):374-84.
180. Kjeldsen SE, Julius S, Mancina G, et al. Effects of valsartan compared to amlodipine on preventing type 2 diabetes in high-risk hypertensive patients: the VALUE trial. *Journal of hypertension*. 2006;24(7):1405-12.
181. McCall KL, Craddock D, Edwards K. Effect of angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin II type 1 receptor blockers on the rate of new-onset diabetes mellitus: a review and pooled analysis. *Pharmacotherapy*. 2006;26(9):1297-306.
182. Yusuf S, Sleight P, Pogue J, et al. Effects of an angiotensin-converting-enzyme inhibitor, ramipril, on cardiovascular events in high-risk patients. The Heart Outcomes Prevention Evaluation Study Investigators. *The New England journal of medicine*. 2000;342(3):145-53.
183. Fox KM. Efficacy of perindopril in reduction of cardiovascular events among patients with stable coronary artery disease: randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre trial (the EUROPA study). *Lancet*. 2003;362(9386):782-8.
184. Julius S, Weber MA, Kjeldsen SE, et al. The Valsartan Antihypertensive Long-Term Use Evaluation (VALUE) trial: outcomes in patients receiving monotherapy. *Hypertension*. 2006;48(3):385-91.
185. Nissen SE, Tuzcu EM, Libby P, et al. Effect of antihypertensive agents on cardiovascular events in patients with coronary disease and normal blood pressure: the CAMELOT study: a randomized controlled trial. *Jama*. 2004;292(18):2217-25.
186. Zanchetti A, Bond MG, Hennig M, et al. Calcium antagonist lacidipine slows down progression of asymptomatic carotid atherosclerosis: principal results of the European Lacidipine Study on Atherosclerosis (ELSA), a randomized, double-blind, long-term trial. *Circulation*. 2002;106(19):2422-7.
187. Poulter NR, Wedel H, Dahlof B, et al. Role of blood pressure and other variables in the differential cardiovascular event rates noted in the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial-Blood Pressure Lowering Arm (ASCOT-BPLA). *Lancet*. 2005;366(9489):907-13.
188. Tatti P, Pahor M, Byington RP, et al. Outcome results of the Fosinopril Versus Amlodipine Cardiovascular Events Randomized Trial (FACET) in patients with hypertension and NIDDM. *Diabetes care*. 1998;21(4):597-603.
189. Pitt B, Byington RP, Furberg CD, et al. Effect of amlodipine on the progression of atherosclerosis and the occurrence of clinical events. PREVENT Investigators. *Circulation*. 2000;102(13):1503-10.

190. Ogiwara T, Fujimoto A, Nakao K, et al. ARB candesartan and CCB amlodipine in hypertensive patients: the CASE-J trial. *Expert review of cardiovascular therapy*. 2008;6(9):1195-201.
191. Preston Mason R. Pleiotropic Effects of Calcium Channel Blockers. *Current Hypertension Reports*. 2012;14(4):293-303.
192. Abernethy DR. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of amlodipine. *Cardiology*. 1992;80 Suppl 1:31-6.
193. Meredith PA, Elliott HL. Clinical pharmacokinetics of amlodipine. *Clinical pharmacokinetics*. 1992;22(1):22-31.
194. Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology. Brittain HG, editor: Elsevier; 2012.
195. Amlodipin: Drug information [Internet]. [cited 23-9-2015].
196. Administration) FUSFaD, Approval letter (Diovan), 2002
197. Nadeem Siddiqui AH, Lakshita Chaudhry, M Shamsheer Alam, Moloy Mitra and Parminder S. Bhasin. Pharmacological and Pharmaceutical Profile of Valsartan: A Review. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2011;1(4):12-9.
198. DIOVAN 40mg SPC,
199. McMurray JJ, Holman RR, Haffner SM, et al. Effect of valsartan on the incidence of diabetes and cardiovascular events. *The New England journal of medicine*. 2010;362(16):1477-90.
200. Cohn JN, Tognoni G. A randomized trial of the angiotensin-receptor blocker valsartan in chronic heart failure. *The New England journal of medicine*. 2001;345(23):1667-75.
201. Krum H, Carson P, Farsang C, et al. Effect of valsartan added to background ACE inhibitor therapy in patients with heart failure: results from Val-HeFT. *European journal of heart failure*. 2004;6(7):937-45.
202. Maggioni AP, Anand I, Gottlieb SO, et al. Effects of valsartan on morbidity and mortality in patients with heart failure not receiving angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Journal of the American College of Cardiology*. 2002;40(8):1414-21.
203. Majahalme SK, Baruch L, Aknay N, et al. Comparison of treatment benefit and outcome in women versus men with chronic heart failure (from the Valsartan Heart Failure Trial). *The American journal of cardiology*. 2005;95(4):529-32.
204. Baruch L, Glazer RD, Aknay N, et al. Morbidity, mortality, physiologic and functional parameters in elderly and non-elderly patients in the Valsartan Heart Failure Trial (Val-HeFT). *American heart journal*. 2004;148(6):951-7.
205. Maggioni AP, Latini R, Carson PE, et al. Valsartan reduces the incidence of atrial fibrillation in patients with heart failure: results from the Valsartan Heart Failure Trial (Val-HeFT). *American heart journal*. 2005;149(3):548-57.
206. Narumi H, Takano H, Shindo S, et al. Effects of valsartan and amlodipine on cardiorenal protection in Japanese hypertensive patients: the Valsartan Amlodipine Randomized Trial. *Hypertension research : official journal of the Japanese Society of Hypertension*. 2011;34(1):62-9.
207. Viberti G, Wheeldon NM. Microalbuminuria reduction with valsartan in patients with type 2 diabetes mellitus: a blood pressure-independent effect. *Circulation*. 2002;106(6):672-8.
208. Pfeffer MA, McMurray JJ, Velazquez EJ, et al. Valsartan, captopril, or both in myocardial infarction complicated by heart failure, left ventricular dysfunction, or both. *The New England journal of medicine*. 2003;349(20):1893-906.
209. Top C, Cingozbay BY, Terekeci H, et al. The effects of valsartan on insulin sensitivity in patients with primary hypertension. *The Journal of international medical research*. 2002;30(1):15-20.

210. Fogari R, Derosa G, Zoppi A, et al. Comparison of the effects of valsartan and felodipine on plasma leptin and insulin sensitivity in hypertensive obese patients. *Hypertension research : official journal of the Japanese Society of Hypertension*. 2005;28(3):209-14.
211. Hollenberg NK, Parving HH, Viberti G, et al. Albuminuria response to very high-dose valsartan in type 2 diabetes mellitus. *Journal of hypertension*. 2007;25(9):1921-6.
212. Ishimitsu T, Kameda T, Akashiba A, et al. Effects of valsartan on the progression of chronic renal insufficiency in patients with nondiabetic renal diseases. *Hypertension research : official journal of the Japanese Society of Hypertension*. 2005;28(11):865-70.
213. Hanefeld M, Abletshauser C. Effect of the angiotensin II receptor antagonist valsartan on lipid profile and glucose metabolism in patients with hypertension. *The Journal of international medical research*. 2001;29(4):270-9.
214. Zappe DH, Sowers JR, Hsueh WA, et al. Metabolic and antihypertensive effects of combined angiotensin receptor blocker and diuretic therapy in prediabetic hypertensive patients with the cardiometabolic syndrome. *Journal of clinical hypertension (Greenwich, Conn)*. 2008;10(12):894-903.
215. Ridker PM, Danielson E, Rifai N, et al. Valsartan, blood pressure reduction, and C-reactive protein: primary report of the Val-MARC trial. *Hypertension*. 2006;48(1):73-9.
216. Flesch G, Muller P, Lloyd P. Absolute bioavailability and pharmacokinetics of valsartan, an angiotensin II receptor antagonist, in man. *European journal of clinical pharmacology*. 1997;52(2):115-20.
217. DIOVAN SPC, 10/9/2015
218. Valsartan: Drug information [Internet]. [cited 23-9-2015].
219. Packard CJ, Shepherd J. Lipoprotein heterogeneity and apolipoprotein B metabolism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997;17:3542-56.
220. Austin MA, Breslow JL, Hennekens CH, et al. Low-density lipoprotein subclass patterns and risk of myocardial infarction. *Jama*. 1988;260:1917-21.
221. Packard CJ. Triacylglycerol-rich lipoproteins and the generation of small, dense low-density lipoprotein. *Biochem Soc Trans*. 2003;31:1066-9.
222. Benton JL, Blumenthal RS, Becker DM, et al. Predictors of low-density lipoprotein particle size in a high-risk African-American population. *The American journal of cardiology*. 2005;95:1320-3.
223. Berneis KK, Krauss RM. Metabolic origins and clinical significance of LDL heterogeneity. *J Lipid Res*. 2002;43(9):1363-79.
224. Rizzo M, Berneis K. Should we measure routinely the LDL peak particle size? *Int J Cardiol*. 2006;107:166-70.
225. Krauss RM. Dietary and genetic probes of atherogenic dyslipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005;25:2265-72.
226. Kwiterovich POJ. Clinical relevance of the biochemical, metabolic, and genetic factors that influence low-density lipoprotein heterogeneity. *The American journal of cardiology*. 2002;90:30i-47i.
227. Packard CJ, Caslake M, Shepherd J. The role of small, dense low density lipoprotein (LDL): a new look. *Int J Cardiol*. 2000;74(Suppl 1):S17-S22.
228. Slyper AH. Low-density lipoprotein density and atherosclerosis: unraveling the connection. *Jama*. 1994;272:305-8.
229. Austin MA. Genetic control of low-density-lipoprotein subclasses. *Lancet*. 1986;2:592-5.
230. Austin MA, Talmud PJ, Luong LA, et al. Candidate-gene studies of the atherogenic lipoprotein phenotype: a sib-pair linkage analysis of DZ women twins. *Am J Hum Genet*. 1998;62:406-19.

231. Austin MA. Genetic epidemiology of low-density lipoprotein subclass phenotypes. *Ann Med.* 1992;24:477-81.
232. Austin MA. Genetic and environmental influences on LDL subclass phenotypes. *Clin Genet.* 1994;46(1 Spec No):64-70.
233. Austin MA, Brunzell JD, Fitch WL, et al. Inheritance of low density lipoprotein subclass patterns in familial combined hyperlipidemia. *Arteriosclerosis.* 1990;10:520-30.
234. Austin MA, Krauss RM. LDL density and atherosclerosis. *Jama.* 1995;273:115.
235. Friedlander Y, Kark JD, Sinnreich R, et al. Inheritance of LDL peak particle diameter: results from a segregation analysis in Israeli families. *Genet Epidemiol.* 1999;16:382-96.
236. Edwards KL, Mahaney MC, Motulsky AG, et al. Pleiotropic genetic effects on LDL size, plasma triglyceride, and HDL cholesterol in families. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999;19:2456-64.
237. Bosse Y, Perusse L, Despres JP, et al. Evidence for a major quantitative trait locus on chromosome 17q21 affecting low-density lipoprotein peak particle diameter. *Circulation.* 2003;107:2361-8.
238. Bosse Y, Perusse L, Vohl MC. Genetics of LDL particle heterogeneity: from genetic epidemiology to DNA-based variations. *J Lipid Res.* 2004;45:1008-26.
239. Czerwinski SA, Mahaney MC, Rainwater DL, et al. Gene by smoking interaction: evidence for effects on low-density lipoprotein size and plasma levels of triglyceride and high-density lipoprotein cholesterol. *Hum Biol.* 2004;76:863-76.
240. Shearman AM, Demissie S, Cupples LA, et al. Tobacco smoking, estrogen receptor a gene variation and small low density lipoprotein level. *Hum Mol Genet.* 2005;14:2405-13.
241. Siri PW, Krauss RM. Influence of dietary carbohydrate and fat on LDL and HDL particle size. *Current atherosclerosis reports.* 2005;7:455-9.
242. Dreon DM, Krauss RM. Diet-gene interactions in human lipoprotein metabolism. *J Am Coll Nutr.* 1997;16:313-24.
243. Krauss RM. Dietary and genetic effects on low-density lipoprotein heterogeneity. *Annu Rev Nutr.* 2001;21:283-95.
244. Luc G, Bard JM, Poulain P, et al. Relationship between low-density lipoprotein size and apolipoprotein A-I-containing particles: the ECTIM study. *Eur J Clin Invest.* 1997;27:242-7.
245. Carr MC, Ayyobi AF, Murdoch SJ, et al. Contribution of hepatic lipase, lipoprotein lipase, and cholesteryl ester transfer protein to LDL and HDL heterogeneity in healthy women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002;22:667-73.
246. Wang J, Qiang H, Chen D, et al. CETP gene mutation (D442G) increases low-density lipoprotein particle size in patients with coronary heart disease. *Clin Chim Acta.* 2002;322:85-90.
247. Talmud PJ, Edwards KL, Turner CM, et al. Linkage of the cholesteryl ester transfer protein (CETP) gene to LDL particle size: use of a novel tetranucleotide repeat within the CETP promoter. *Circulation.* 2000;101:2461-6.
248. Skoglund-Andersson C, Ehrenborg E, Fisher RM, et al. Influence of common variants in the CETP, LPL, HL and APO E genes on LDL heterogeneity in healthy, middle-aged men. *Atherosclerosis.* 2003;167:311-7.
249. Havel RJ. Genetic underpinnings of LDL size and density: a role for hepatic lipase? *The American journal of clinical nutrition.* 2000;71:1390-1.
250. Ichikawa T, Kitajima S, Liang J, et al. Overexpression of lipoprotein lipase in transgenic rabbits leads to increased small dense LDL in plasma and promotes atherosclerosis. *Lab Invest.* 2004;84:715-26.
251. Esteve E, Faure E, Calvo F, et al. SNP3 polymorphism in apo A-V gene is associated with small dense LDL particles in type 2 diabetes. *Diabetologia.* 2004;47:355-6.

252. Austin MA, Talmud PJ, Farin FM, et al. Association of apolipoprotein A5 variants with LDL particle size and triglyceride in Japanese Americans. *Biochim Biophys Acta*. 2004;1688:1-9.
253. Hogue JC, Lamarche B, Gaudet D, et al. Genotype of the mutant LDL receptor allele is associated with LDL particle size heterogeneity in familial combined hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2006;184:163-70.
254. Nielsen LB. Transfer of low-density lipoprotein into the arterial wall and risk of atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 1996;123:1-15.
255. Anber V, Millar JS, McConnel M, et al. Interaction of very low-density, intermediate-density and low-density lipoproteins with human arterial wall proteoglycans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997;17:2507-14.
256. Krauss RM. Atherogenic lipoprotein phenotype and diet-gene interactions. *J Nutr*. 2001;131:340S-3S.
257. Sattar N, Petrie JR, Jaap AJ. The atherogenic lipoprotein phenotype and vascular endothelial dysfunction. *Atherosclerosis*. 1998;138:229-35.
258. Woodman RJ, Watts GF, Playford DA, et al. Oxidized LDL and small LDL particle size are independently predictive of a selective defect in microcirculatory endothelial function in type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab*. 2005;7:612-7.
259. Nigon F, Lesnic P, Rouis M, et al. Discrete subspecies of human low-density lipoproteins are heterogeneous in their interaction with the cellular LDL receptor. *J Lipid Res*. 1991;32:1741-53.
260. Galeano NF, Milne R, Marcel YL, et al. Apoprotein B structure and receptor recognition of triacylglyceride-rich low-density lipoprotein (LDL) is modified in small LDL but not in triglyceride-rich LDL of normal size. *J Biol Chem*. 1994;269:511-9.
261. Galeano NF, Al Haiseri M, Keyserman F, et al. Small dense low density lipoprotein has increased affinity for LDL receptor-independent cell surface binding sites: A potential mechanism for increased atherogenicity. *J Lipid Res*. 1998;39:1263-73.
262. Toyota Y, Yamamura T, Miyake Y, et al. Low density lipoprotein (LDL) binding affinity for the LDL receptor in hyperlipoproteinemia. *Atherosclerosis*. 1999;147:77-86.
263. Rizzo M, Berneis K. Low-density lipoprotein size and cardiovascular risk assessment. *QJM*. 2006;99:1-14.
264. Karmena R, Duriez P, Fruchart JC. Atherogenic lipoprotein particles in atherosclerosis. *Circulation*. 2004;109:III2-III7.
265. Campos H, Genest JJ, Blijlevens E, et al. Low density lipoprotein particle size and coronary artery disease. *Arterioscler Thromb*. 1992;12:187-95.
266. Coresh J, Kwiterovich PJ, Smith H, et al. Association of plasma triglyceride concentration and LDL diameter density, and chemical composition with premature coronary artery disease in men and women. *J Lipid Res*. 1993;34:1687-97.
267. Tornvall P, Karpe F, Carlson LA, et al. Relationships of low density lipoprotein subfractions to angiographically defined coronary artery disease in young survivors of myocardial infarction. *Atherosclerosis*. 1991;90:67-80.
268. Koba S, Hirano T, Kondo T, et al. Significance of small dense low-density lipoproteins and other risk factors in patients with various types of coronary heart disease. *American heart journal*. 2002;144:1026-35.
269. Yoon Y, Song J, Park HD, et al. Significance of small dense low-density lipoproteins as coronary risk factor in diabetic and non-diabetic Korean populations. *Clin Chem Lab Med*. 2005;43:431-7.
270. Gardner CD, Formann SP, Krauss RM. Association of small low-density lipoprotein particles with the incidence of coronary artery disease in men and women. *Jama*. 1996;276:875-81.

271. Lamarche B, Tchernof A, Moorjani S, et al. Small, dense low-density lipoprotein particles as a predictor of the risk of ischemic heart disease in men. *Circulation*. 1997;95:69-75.
272. Stampfer MJ, Krauss RM, Ma J, et al. A prospective study of triglyceride levels, low-density lipoprotein particle diameter, and risk of myocardial infarction. *Jama*. 1996;276:882-8.
273. Austin MA, Rodriguez BL, McKnight B, et al. Low-density lipoprotein particle size, triglycerides, and high-density lipoprotein cholesterol as risk factors for coronary heart disease in older Japanese-American men. *The American journal of cardiology*. 2000;86:412-6.
274. Koba S, Hirano T, Ito Y, et al. Significance of small dense low-density lipoprotein-cholesterol concentrations in relation to the severity of coronary heart diseases. *Atherosclerosis*. 2006;189:206-14.
275. Arsenault BJ, Lemieux I, Despres JP, et al. Cholesterol levels in small LDL particles predict the risk of coronary heart disease in the EPIC-Norfolk prospective population study. *European heart journal*. 2007;28(22):2770-7.
276. Campos H, Roederer GO, Lussier-Cacan S, et al. Predominance of large LDL and reduced HDL₂ cholesterol in normolipidemic men with coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1995;15:1043-8.
277. Campos H, Moye LA, Glasser SP, et al. Low-density lipoprotein size, pravastatin treatment, and coronary events. *J Am Med Assoc*. 2001;286:1468-74.
278. Rizzo M, Berneis K. The role of small, dense low-density-lipoproteins in non-coronary forms of atherosclerosis. *Vasc Dis Prevent*. 2006;3:269-74.
279. Skoglund-Andersson C, Tang R, Bond MG, et al. LDL particle size distribution is associated with carotid intima-media thickness in healthy 50-year-old men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999;19(10):2422-30.
280. Hallman DM, Brown SA, Ballantyne CM, et al. Relationship between low-density lipoprotein subclasses and asymptomatic atherosclerosis in subjects from the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Biomarkers*. 2004;9:190-202.
281. Chapman MJ, Assmann G, Fruchart JC, et al. Raising high-density lipoprotein cholesterol with reduction of cardiovascular risk: the role of nicotinic acid--a position paper developed by the European Consensus Panel on HDL-C. *Curr Med Res Opin*. 2004;20(8):1253-68.
282. Kontush A, Chapman MJ. Antiatherogenic small, dense HDL--guardian angel of the arterial wall? *Nature clinical practice Cardiovascular medicine*. 2006;3(3):144-53.
283. Movva R, Rader DJ. Laboratory assessment of HDL heterogeneity and function. *Clin Chem*. 2008;54(5):788-800.
284. Kontush A, Chantepie S, Chapman MJ. Small, dense HDL particles exert potent protection of atherogenic LDL against oxidative stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23(10):1881-8.
285. Camont L, Lhomme M, Rached F, et al. Small, dense high-density lipoprotein-3 particles are enriched in negatively charged phospholipids: relevance to cellular cholesterol efflux, antioxidative, antithrombotic, anti-inflammatory, and antiapoptotic functionalities. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2013;33(12):2715-23.
286. Kontush A, Chapman MJ. Functionally defective high-density lipoprotein: a new therapeutic target at the crossroads of dyslipidemia, inflammation, and atherosclerosis. *Pharmacological reviews*. 2006;58(3):342-74.
287. Benveniste J. Release of platelet-activating factor by peritoneal and alveolar macrophages. *Monogr Allergy*. 1979;14:138-41.
288. Camussi G, Aglietta M, Malavasi F, et al. The release of platelet-activating factor from human endothelial cells in culture. *J Immunol*. 1983;131(5):2397-403.

289. Camussi G, Bussolino F, Aglietta M, et al. The release of platelet-activating factor during phagocytosis by polymorphonuclear neutrophils and monocytes. *Adv Exp Med Biol.* 1982;141:259-68.
290. McManus LM. Pathobiology of platelet-activating factors. *Pathol Immunopathol Res.* 1986;5(2):104-17.
291. Shaw JO, Pinckard RN, Ferrigni KS, et al. Activation of human neutrophils with 1-O-hexadecyl/octadecyl-2-acetyl-sn-glycerol-3-phosphorylcholine (platelet activating factor). *J Immunol.* 1981;127(3):1250-5.
292. Hanahan DJ. Platelet activating factor: a biologically active phosphoglyceride. *Annu Rev Biochem.* 1986;55:483-509.
293. Farr RS, Cox CP, Wardlow ML, et al. Preliminary studies of an acid-labile factor (ALF) in human sera that inactivates platelet-activating factor (PAF). *Clin Immunol Immunopathol.* 1980;15(3):318-30.
294. Blank ML, Lee T, Fitzgerald V, et al. A specific acetylhydrolase for 1-alkyl-2-acetyl-sn-glycero-3-phosphocholine (a hypotensive and platelet-activating lipid). *J Biol Chem.* 1981;256(1):175-8.
295. Stafforini DM, Prescott SM, McIntyre TM. Human plasma platelet-activating factor acetylhydrolase. Purification and properties. *J Biol Chem.* 1987;262(9):4223-30.
296. Tjoelker LW, Eberhardt C, Unger J, et al. Plasma platelet-activating factor acetylhydrolase is a secreted phospholipase A2 with a catalytic triad. *J Biol Chem.* 1995;270(43):25481-7.
297. Stafforini DM, Elstad MR, McIntyre TM, et al. Human macrophages secrete platelet-activating factor acetylhydrolase. *J Biol Chem.* 1990;265(17):9682-7.
298. Suzuki Y, Miwa M, Harada M, et al. Release of acetylhydrolase from platelets on aggregation with platelet-activating factor. *Eur J Biochem.* 1988;172(1):117-20.
299. Korth R, Bidault J, Palmantier R, et al. Human platelets release a paf-acether: acetylhydrolase similar to that in plasma. *Lipids.* 1993;28(3):193-9.
300. Nakajima K, Murakami M, Yanoshita R, et al. Activated mast cells release extracellular type platelet-activating factor acetylhydrolase that contributes to autocrine inactivation of platelet-activating factor. *J Biol Chem.* 1997;272(32):19708-13.
301. Tarbet EB, Stafforini DM, Elstad MR, et al. Liver cells secrete the plasma form of platelet-activating factor acetylhydrolase. *J Biol Chem.* 1991;266(25):16667-73.
302. McIntyre TM, Prescott SM, Stafforini DM. The emerging roles of PAF acetylhydrolase. *J Lipid Res.* 2008.
303. Tsoukatos DC, Brocheriou I, Moussis V, et al. Platelet-activating factor acetylhydrolase and transacetylase activities in human aorta and mammary artery. *J Lipid Res.* 2008;49(10):2240-9.
304. Svetlov SI, Sturm E, Olson MS, et al. Hepatic regulation of platelet-activating factor acetylhydrolase and lecithin:cholesterol acyltransferase biliary and plasma output in rats exposed to bacterial lipopolysaccharide. *Hepatology (Baltimore, Md.)* 1999;30(1):128-36.
305. Stafforini DM. Biology of platelet-activating factor acetylhydrolase (PAF-AH, lipoprotein associated phospholipase A2). *Cardiovasc Drugs Ther.* 2009;23(1):73-83.
306. Tselepis AD, Dentan C, Karabina SA, et al. PAF-degrading acetylhydrolase is preferentially associated with dense LDL and VLDL-1 in human plasma. Catalytic characteristics and relation to the monocyte-derived enzyme. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1995;15(10):1764-73.
307. Gaubatz JW, Gillard BK, Massey JB, et al. Dynamics of dense electronegative low density lipoproteins and their preferential association with lipoprotein phospholipase A(2). *J Lipid Res.* 2007;48(2):348-57.

308. Blencowe C, Hermetter A, Kostner GM, et al. Enhanced association of platelet-activating factor acetylhydrolase with lipoprotein (a) in comparison with low density lipoprotein. *J Biol Chem.* 1995;270(52):31151-7.
309. Tsimikas S, Tsironis LD, Tselepis AD. New insights into the role of lipoprotein(a)-associated lipoprotein-associated phospholipase A2 in atherosclerosis and cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007;27(10):2094-9.
310. Ambrosio G, Oriente A, Napoli C, et al. Oxygen radicals inhibit human plasma acetylhydrolase, the enzyme that catabolizes platelet-activating factor. *The Journal of clinical investigation.* 1994;93(6):2408-16.
311. Stafforini DM, McIntyre TM, Prescott SM. Platelet-activating factor acetylhydrolase from human plasma. *Methods Enzymol.* 1990;187:344-57.
312. Bielicki JK, Knoff LJ, Tribble DL, et al. Relative sensitivities of plasma lecithin:cholesterol acyltransferase, platelet-activating factor acetylhydrolase, and paraoxonase to in vitro gas-phase cigarette smoke exposure. *Atherosclerosis.* 2001;155(1):71-8.
313. Cao Y, Stafforini DM, Zimmerman GA, et al. Expression of plasma platelet-activating factor acetylhydrolase is transcriptionally regulated by mediators of inflammation. *J Biol Chem.* 1998;273(7):4012-20.
314. 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(2):275-81.
315. Wu X, Zimmerman GA, Prescott SM, et al. The p38 MAPK pathway mediates transcriptional activation of the plasma platelet-activating factor acetylhydrolase gene in macrophages stimulated with lipopolysaccharide. *J Biol Chem.* 2004;279(34):36158-65.
316. Shi Y, Zhang P, Zhang L, et al. Role of lipoprotein-associated phospholipase A2 in leukocyte activation and inflammatory responses. *Atherosclerosis.* 2007;191(1):54-62.
317. Elstad MR, Stafforini DM, McIntyre TM, et al. Platelet-activating factor acetylhydrolase increases during macrophage differentiation. A novel mechanism that regulates accumulation of platelet-activating factor. *J Biol Chem.* 1989;264(15):8467-70.
318. Zalewski A, Macphee C. Role of lipoprotein-associated phospholipase A2 in atherosclerosis: biology, epidemiology, and possible therapeutic target. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005;25(5):923-31.
319. Karabina SA, Elisaf M, Bairaktari E, et al. Increased activity of platelet-activating factor acetylhydrolase in low-density lipoprotein subfractions induces enhanced lysophosphatidylcholine production during oxidation in patients with heterozygous familial hypercholesterolaemia. *Eur J Clin Invest.* 1997;27:595-602.
320. Karabina SA, Liapikos TA, Grekas G, et al. Distribution of PAF-acetylhydrolase activity in human plasma low-density lipoprotein subfractions. *Biochim Biophys Acta.* 1994;1213(1):34-8.
321. Zalewski A, Nelson JJ, Hegg L, et al. Lp-PLA2: a new kid on the block. *Clin Chem.* 2006;52(9):1645-50.
322. Tselepis AD, John Chapman M. Inflammation, bioactive lipids and atherosclerosis: potential roles of a lipoprotein-associated phospholipase A2, platelet activating factor-acetylhydrolase. *Atheroscler Suppl.* 2002;3(4):57-68.
323. Stafforini DM, Zimmerman GA, McIntyre TM, et al. The platelet-activating factor acetylhydrolase from human plasma prevents oxidative modification of low-density lipoprotein. *Trans Assoc Am Physicians.* 1992;105:44-63.
324. Navab M, Hama SY, Hough GP, et al. High density associated enzymes: their role in vascular biology. *Current opinion in lipidology.* 1998;9(5):449-56.
325. Satoh K, Imaizumi T, Yoshida H, et al. Platelet-activating factor acetylhydrolase in plasma lipoproteins of healthy men and women. *Clin Chim Acta.* 1991;202(1-2):95-103.

326. Kosaka T, Yamaguchi M, Miyanaga K, et al. Serum platelet-activating factor acetylhydrolase (PAF-AH) activity in more than 3000 healthy Japanese. *Clin Chim Acta*. 2001;312(1-2):179-83.
327. Brilakis ES, Khera A, McGuire DK, et al. Influence of race and sex on lipoprotein-associated phospholipase A2 levels: observations from the Dallas Heart Study. *Atherosclerosis*. 2008;199(1):110-5.
328. Yasuda K, Johnston JM. The hormonal regulation of platelet-activating factor-acetylhydrolase in the rat. *Endocrinology*. 1992;130(2):708-16.
329. Guerra R, Zhao B, Mooser V, et al. Determinants of plasma platelet-activating factor acetylhydrolase: heritability and relationship to plasma lipoproteins. *J Lipid Res*. 1997;38(11):2281-8.
330. Caslake MJ, Packard CJ, Suckling KE, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A(2), platelet-activating factor acetylhydrolase: a potential new risk factor for coronary artery disease. *Atherosclerosis*. 2000;150(2):413-9.
331. Kujiraoka T, Iwasaki T, Ishihara M, et al. Altered distribution of plasma PAF-AH between HDLs and other lipoproteins in hyperlipidemia and diabetes mellitus. *J Lipid Res*. 2003;44(10):2006-14.
332. Packard CJ, O'Reilly DS, Caslake MJ, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 as an independent predictor of coronary heart disease. West of Scotland Coronary Prevention Study Group. *The New England journal of medicine*. 2000;343(16):1148-55.
333. Ballantyne CM, Hoogeveen RC, Bang H, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2, high-sensitivity C-reactive protein, and risk for incident coronary heart disease in middle-aged men and women in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Circulation*. 2004;109(7):837-42.
334. Koenig W, Khuseyinova N, Lowel H, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 adds to risk prediction of incident coronary events by C-reactive protein in apparently healthy middle-aged men from the general population: results from the 14-year follow-up of a large cohort from southern Germany. *Circulation*. 2004;110(14):1903-8.
335. Oei HH, van der Meer IM, Hofman A, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 activity is associated with risk of coronary heart disease and ischemic stroke: the Rotterdam Study. *Circulation*. 2005;111(5):570-5.
336. Kiechl S, Willeit J, Mayr M, et al. Oxidized phospholipids, lipoprotein(a), lipoprotein-associated phospholipase A2 activity, and 10-year cardiovascular outcomes: prospective results from the Bruneck study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2007;27(8):1788-95.
337. Daniels LB, Laughlin GA, Sarno MJ, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 is an independent predictor of incident coronary heart disease in an apparently healthy older population: the Rancho Bernardo Study. *Journal of the American College of Cardiology*. 2008;51(9):913-9.
338. Koenig W, Khuseyinova N. Lipoprotein-associated and secretory phospholipase A2 in cardiovascular disease: the epidemiological evidence. *Cardiovasc Drugs Ther*. 2009;23(1):85-92.
339. Brilakis ES, McConnell JP, Lennon RJ, et al. Association of lipoprotein-associated phospholipase A2 levels with coronary artery disease risk factors, angiographic coronary artery disease, and major adverse events at follow-up. *European heart journal*. 2005;26(2):137-44.
340. Koenig W, Twardella D, Brenner H, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 predicts future cardiovascular events in patients with coronary heart disease independently of traditional risk factors, markers of inflammation, renal function, and hemodynamic stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006;26(7):1586-93.

341. Corsetti JP, Rainwater DL, Moss AJ, et al. High lipoprotein-associated phospholipase A2 is a risk factor for recurrent coronary events in postinfarction patients. *Clin Chem*. 2006;52(7):1331-8.
342. Sabatine MS, Morrow DA, O'Donoghue M, et al. Prognostic utility of lipoprotein-associated phospholipase A2 for cardiovascular outcomes in patients with stable coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2007;27(11):2463-9.
343. Winkler K, Hoffmann MM, Winkelmann BR, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 predicts 5-year cardiac mortality independently of established risk factors and adds prognostic information in patients with low and medium high-sensitivity C-reactive protein (the Ludwigshafen risk and cardiovascular health study). *Clin Chem*. 2007;53(8):1440-7.
344. Li D, Zhao L, Yu J, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 in coronary heart disease: Review and meta-analysis. *Clin Chim Acta*. 2017;465:22-9.
345. Wallentin L, Held C, Armstrong PW, et al. Lipoprotein-Associated Phospholipase A2 Activity Is a Marker of Risk But Not a Useful Target for Treatment in Patients With Stable Coronary Heart Disease. *Journal of the American Heart Association*. 2016;5(6).
346. Ballantyne CM, Hoogeveen RC, Bang H, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2, high-sensitivity C-reactive protein, and risk for incident ischemic stroke in middle-aged men and women in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Archives of internal medicine*. 2005;165(21):2479-84.
347. Garza CA, Montori VM, McConnell JP, et al. Association between lipoprotein-associated phospholipase A2 and cardiovascular disease: a systematic review. *Mayo Clinic proceedings*. 2007;82(2):159-65.
348. Davidson MH, Corson MA, Alberts MJ, et al. Consensus panel recommendation for incorporating lipoprotein-associated phospholipase A2 testing into cardiovascular disease risk assessment guidelines. *The American journal of cardiology*. 2008;101(12A):51F-7F.
349. Jong MC, Havekes LM. Insights into apolipoprotein C metabolism from transgenic and gene-targeted mice. *International journal of tissue reactions*. 2000;22(2-3):59-66.
350. Lenich C, Brecher P, Makrides S, et al. Apolipoprotein gene expression in the rabbit: abundance, size, and distribution of apolipoprotein mRNA species in different tissues. *J Lipid Res*. 1988;29(6):755-64.
351. Wu AL, Windmueller HG. Relative contributions by liver and intestine to individual plasma apolipoproteins in the rat. *J Biol Chem*. 1979;254(15):7316-22.
352. Zannis VI, Cole FS, Jackson CL, et al. Distribution of apolipoprotein A-I, C-II, C-III, and E mRNA in fetal human tissues. Time-dependent induction of apolipoprotein E mRNA by cultures of human monocyte-macrophages. *Biochemistry*. 1985;24(16):4450-5.
353. Jong MC, Hofker MH, Havekes LM. Role of ApoCs in lipoprotein metabolism: functional differences between ApoC1, ApoC2, and ApoC3. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999;19(3):472-84.
354. Curry MD, McConathy WJ, Fesmire JD, et al. Quantitative determination of apolipoproteins C-I and C-II in human plasma by separate electroimmunoassays. *Clin Chem*. 1981;27(4):543-8.
355. Baggio G, Manzato E, Gabelli C, et al. Apolipoprotein C-II deficiency syndrome. Clinical features, lipoprotein characterization, lipase activity, and correction of hypertriglyceridemia after apolipoprotein C-II administration in two affected patients. *The Journal of clinical investigation*. 1986;77(2):520-7.
356. Havel RJ, Fielding CJ, Olivecrona T, et al. Cofactor activity of protein components of human very low density lipoproteins in the hydrolysis of triglycerides by lipoproteins lipase from different sources. *Biochemistry*. 1973;12(9):1828-33.

357. Shachter NS, Hayek T, Leff T, et al. Overexpression of apolipoprotein CII causes hypertriglyceridemia in transgenic mice. *The Journal of clinical investigation*. 1994;93(4):1683-90.
358. Tian L, Xu Y, Fu M, et al. Influence of apolipoprotein CII concentrations on HDL subclass distribution. *Journal of atherosclerosis and thrombosis*. 2009;16(5):611-20.
359. Stewart CR, Haw A, 3rd, Lopez R, et al. Serum amyloid P colocalizes with apolipoproteins in human atheroma: functional implications. *J Lipid Res*. 2007;48(10):2162-71.
360. Howlett GJ, Moore KJ. Untangling the role of amyloid in atherosclerosis. *Current opinion in lipidology*. 2006;17(5):541-7.
361. Gerber Y, Goldbourt U, Cohen H, et al. Association between serum apolipoprotein C(II) concentration and coronary heart disease. *Preventive medicine*. 2002;35(1):42-7.
362. Bruns GA, Karathanasis SK, Breslow JL. Human apolipoprotein A-I--C-III gene complex is located on chromosome 11. *Arteriosclerosis*. 1984;4(2):97-102.
363. Chan DC, Chen MM, Ooi EM, et al. An ABC of apolipoprotein C-III: a clinically useful new cardiovascular risk factor? *Int J Clin Pract*. 2008;62(5):799-809.
364. Jong MC, Rensen PC, Dahlmans VE, et al. Apolipoprotein C-III deficiency accelerates triglyceride hydrolysis by lipoprotein lipase in wild-type and apoE knockout mice. *J Lipid Res*. 2001;42(10):1578-85.
365. Gervaise N, Garrigue MA, Lasfargues G, et al. Triglycerides, apo C3 and Lp B:C3 and cardiovascular risk in type II diabetes. *Diabetologia*. 2000;43(6):703-8.
366. Lee SJ, Campos H, Moye LA, et al. LDL containing apolipoprotein CIII is an independent risk factor for coronary events in diabetic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23(5):853-8.
367. Gerber Y, Goldbourt U, Segev S, et al. Indices related to apo CII and CIII serum concentrations and coronary heart disease: a case-control study. *Preventive medicine*. 2003;37(1):18-22.
368. Luc G, Fievet C, Arveiler D, et al. Apolipoproteins C-III and E in apoB- and non-apoB-containing lipoproteins in two populations at contrasting risk for myocardial infarction: the ECTIM study. *Etude Cas Temoins sur 'Infarctus du Myocarde*. *J Lipid Res*. 1996;37(3):508-17.
369. Sacks FM, Alaupovic P, Moye LA, et al. VLDL, apolipoproteins B, CIII, and E, and risk of recurrent coronary events in the Cholesterol and Recurrent Events (CARE) trial. *Circulation*. 2000;102(16):1886-92.
370. Kazumi T, Kawaguchi A, Hozumi T, et al. Low density lipoprotein particle diameter in young, nonobese, normolipidemic Japanese men. *Atherosclerosis*. 1999;142(1):113-9.
371. Muntner P, Anderson A, Charleston J, et al. Hypertension awareness, treatment, and control in adults with CKD: results from the Chronic Renal Insufficiency Cohort (CRIC) Study. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*. 2010;55(3):441-51.
372. McCullough PA, Steigerwalt S, Tolia K, et al. Cardiovascular disease in chronic kidney disease: data from the Kidney Early Evaluation Program (KEEP). *Current diabetes reports*. 2011;11(1):47-55.
373. Young JH, Klag MJ, Muntner P, et al. Blood pressure and decline in kidney function: findings from the Systolic Hypertension in the Elderly Program (SHEP). *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2002;13(11):2776-82.
374. Anderson S, Brenner BM. Therapeutic benefit of converting-enzyme inhibition in progressive renal disease. *American journal of hypertension*. 1988;1(4 Pt 2):380S-3S.
375. Holtkamp FA, de Zeeuw D, Thomas MC, et al. An acute fall in estimated glomerular filtration rate during treatment with losartan predicts a slower decrease in long-term renal function. *Kidney international*. 2011;80(3):282-7.

376. Ovbiagele B. Microalbuminuria: risk factor and potential therapeutic target for stroke? *Journal of the neurological sciences*. 2008;271(1-2):21-8.
377. de Zeeuw D, Parving HH, Henning RH. Microalbuminuria as an early marker for cardiovascular disease. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2006;17(8):2100-5.
378. Galle J. Reduction of proteinuria with angiotensin receptor blockers. *Nature clinical practice Cardiovascular medicine*. 2008;5 Suppl 1:S36-43.
379. Ekstrom B, Berggard I. Human alpha1-microglobulin. Purification procedure, chemical and physicochemical properties. *J Biol Chem*. 1977;252(22):8048-57.
380. Tejler L, Grubb AO. A complex-forming glycoprotein heterogeneous in charge and present in human plasma, urine, and cerebrospinal fluid. *Biochim Biophys Acta*. 1976;439(1):82-94.
381. Ekstrom B, Peterson PA, Berggard I. A urinary and plasma alpha1-glycoprotein of low molecular weight: isolation and some properties. *Biochemical and biophysical research communications*. 1975;65(4):1427-33.
382. Matsui Y, Eguchi K, Ishikawa J, et al. Urinary albumin excretion during angiotensin II receptor blockade: comparison of combination treatment with a diuretic or a calcium-channel blocker. *American journal of hypertension*. 2011;24(4):466-73.
383. Kobori H, Mori H, Masaki T, et al. Angiotensin II blockade and renal protection. *Current pharmaceutical design*. 2013;19(17):3033-42.
384. Galeano NF, Al-Haideri M, Keyserman F, et al. Small dense low density lipoprotein has increased affinity for LDL receptor-independent cell surface binding sites: a potential mechanism for increased atherogenicity. *J Lipid Res*. 1998;39(6):1263-73.
385. St-Pierre AC, Cantin B, Dagenais GR, et al. Low-density lipoprotein subfractions and the long-term risk of ischemic heart disease in men: 13-year follow-up data from the Quebec Cardiovascular Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005;25(3):553-9.
386. Landray MJ, Sagar G, Muskin J, et al. Association of atherogenic low-density lipoprotein subfractions with carotid atherosclerosis. *QJM*. 1998;91(5):345-51.
387. Kasiske BL, Ma JZ, Kalil RS, et al. Effects of antihypertensive therapy on serum lipids. *Annals of internal medicine*. 1995;122(2):133-41.
388. Karagiannis A, Tziomalos K, Anagnostis P, et al. The effect of antihypertensive agents on insulin sensitivity, lipids and haemostasis. *Current vascular pharmacology*. 2010;8(6):792-803.
389. Deano R, Sorrentino M. Lipid effects of antihypertensive medications. *Current atherosclerosis reports*. 2012;14(1):70-7.
390. Duarte JD, Cooper-DeHoff RM. Mechanisms for blood pressure lowering and metabolic effects of thiazide and thiazide-like diuretics. *Expert review of cardiovascular therapy*. 2010;8(6):793-802.
391. Weidmann P, de Courten M, Ferrari P, et al. Serum lipoproteins during treatment with antihypertensive drugs. *Journal of cardiovascular pharmacology*. 1993;22 Suppl 6:S98-105.
392. Wong MC, Jiang JY, Ali MK, et al. Antihypertensive drug class and dyslipidemia: risk association among Chinese patients with uncomplicated hypertension. *Journal of human hypertension*. 2008;22(9):648-51.
393. Jounela AJ, Lilja M, Lumme J, et al. Relation between low dose of hydrochlorothiazide, antihypertensive effect and adverse effects. *Blood pressure*. 1994;3(4):231-5.
394. Griffin BA. Lipoprotein atherogenicity: an overview of current mechanisms. *The Proceedings of the Nutrition Society*. 1999;58(1):163-9.
395. Boquist S, Ruotolo G, Hellenius ML, et al. Effects of a cardioselective beta-blocker on postprandial triglyceride-rich lipoproteins, low density lipoprotein particle size and glucose-

- insulin homeostasis in middle-aged men with modestly increased cardiovascular risk. *Atherosclerosis*. 1998;137(2):391-400.
396. Hirano T, Yoshino G, Kashiwazaki K, et al. Doxazosin reduces prevalence of small dense low density lipoprotein and remnant-like particle cholesterol levels in nondiabetic and diabetic hypertensive patients. *American journal of hypertension*. 2001;14(9 Pt 1):908-13.
397. Bakris GL, Smith AC, Richardson DJ, et al. Impact of an ACE inhibitor and calcium antagonist on microalbuminuria and lipid subfractions in type 2 diabetes: a randomised, multi-centre pilot study. *Journal of human hypertension*. 2002;16(3):185-91.
398. Saiki A, Ohira M, Endo K, et al. The angiotensin II receptor antagonist valsartan enhances lipoprotein lipase mass in preheparin serum in type 2 diabetes with hypertension. *Diabetes research and clinical practice*. 2006;74(3):242-8.
399. Stimpel M, Koch B, Oparil S. Antihypertensive treatment in postmenopausal women: results from a prospective, randomized, double-blind, controlled study comparing an ACE inhibitor (moexipril) with a diuretic (hydrochlorothiazide). *Cardiology*. 1998;89(4):271-6.
400. Mikhailidis DP, Elisaf M, Rizzo M, et al. "European panel on low density lipoprotein (LDL) subclasses": a statement on the pathophysiology, atherogenicity and clinical significance of LDL subclasses. *Current vascular pharmacology*. 2011;9(5):533-71.
401. Asztalos BF, Cupples LA, Demissie S, et al. High-density lipoprotein subpopulation profile and coronary heart disease prevalence in male participants of the Framingham Offspring Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004;24(11):2181-7.
402. Maeda S, Nakanishi S, Yoneda M, et al. Associations between small dense LDL, HDL subfractions (HDL2, HDL3) and risk of atherosclerosis in Japanese-Americans. *Journal of atherosclerosis and thrombosis*. 2012;19(5):444-52.
403. Zhang Y, Zhu CG, Xu RX, et al. HDL subfractions and very early CAD: novel findings from untreated patients in a Chinese cohort. *Scientific reports*. 2016;6:30741.
404. Asztalos BF, Collins D, Cupples LA, et al. Value of high-density lipoprotein (HDL) subpopulations in predicting recurrent cardiovascular events in the Veterans Affairs HDL Intervention Trial. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005;25(10):2185-91.
405. Valimaki M, Maass L, Harno K, et al. Lipoprotein lipids and apoproteins during beta-blocker administration: comparison of penbutolol and atenolol. *European journal of clinical pharmacology*. 1986;30(1):17-20.
406. Pokharel Y, Sun W, Polfus LM, et al. Lipoprotein associated phospholipase A2 activity, apolipoprotein C3 loss-of-function variants and cardiovascular disease: The Atherosclerosis Risk In Communities Study. *Atherosclerosis*. 2015;241(2):641-8.
407. Hakkinen T, Luoma JS, Hiltunen MO, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A(2), platelet-activating factor acetylhydrolase, is expressed by macrophages in human and rabbit atherosclerotic lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999;19(12):2909-17.
408. Acharya NK, Levin EC, Clifford PM, et al. Diabetes and hypercholesterolemia increase blood-brain barrier permeability and brain amyloid deposition: beneficial effects of the LpPLA2 inhibitor darapladib. *Journal of Alzheimer's disease : JAD*. 2013;35(1):179-98.
409. Serruys PW, Garcia-Garcia HM, Buszman P, et al. Effects of the direct lipoprotein-associated phospholipase A(2) inhibitor darapladib on human coronary atherosclerotic plaque. *Circulation*. 2008;118(11):1172-82.
410. Fenning RS, Burgert ME, Hamamdzc D, et al. Atherosclerotic plaque inflammation varies between vascular sites and correlates with response to inhibition of lipoprotein-associated phospholipase A2. *Journal of the American Heart Association*. 2015;4(2).
411. Marathe GK, Pandit C, Lakshmikanth CL, et al. To hydrolyze or not to hydrolyze: the dilemma of platelet-activating factor acetylhydrolase. *J Lipid Res*. 2014;55(9):1847-54.
412. White HD, Held C, Stewart R, et al. Darapladib for preventing ischemic events in stable coronary heart disease. *The New England journal of medicine*. 2014;370(18):1702-11.

413. O'Donoghue ML, Braunwald E, White HD, et al. Effect of darapladib on major coronary events after an acute coronary syndrome: the SOLID-TIMI 52 randomized clinical trial. *Jama*. 2014;312(10):1006-15.
414. Thompson A, Gao P, Orfei L, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A(2) and risk of coronary disease, stroke, and mortality: collaborative analysis of 32 prospective studies. *Lancet*. 2010;375(9725):1536-44.
415. Bonnefont-Rousselot D. [Lp-PLA, a biomarker of vascular inflammation and vulnerability of atherosclerosis plaques]. *Annales pharmaceutiques francaises*. 2015.
416. Satoh K, Imaizumi T, Kawamura Y, et al. Increased activity of the platelet-activating factor acetylhydrolase in plasma low density lipoprotein from patients with essential hypertension. *Prostaglandins*. 1989;37(6):673-82.
417. Vasilis Tsimihodimos ADT. Effect of Cardiovascular Drugs on the Plasma Levels of LipoproteinAssociated Phospholipase A2 (Lp-PLA2) *The Open Clinical Chemistry Journal*. 2010;3:60-5.
418. Komiya N, Hirose H, Saisho Y, et al. Effects of 12-month valsartan therapy on glycation and oxidative stress markers in type 2 diabetic subjects with hypertension. *International heart journal*. 2008;49(6):681-9.
419. Rizos EC, Spyrou A, Liberopoulos EN, et al. Effects of eprosartan on serum metabolic parameters in patients with essential hypertension. *The open cardiovascular medicine journal*. 2007;1:22-6.
420. Tambaki AP, Rizos E, Tsimihodimos V, et al. Effects of antihypertensive and hypolipidemic drugs on plasma and high-density lipoprotein-associated platelet activating factor-acetylhydrolase activity. *Journal of cardiovascular pharmacology and therapeutics*. 2004;9(2):91-5.
421. Spirou A, Rizos E, Liberopoulos EN, et al. Effect of barnidipine on blood pressure and serum metabolic parameters in patients with essential hypertension: a pilot study. *Journal of cardiovascular pharmacology and therapeutics*. 2006;11(4):256-61.
422. Gazi I, Lourida ES, Filippatos T, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 activity is a marker of small, dense LDL particles in human plasma. *Clin Chem*. 2005;51(12):2264-73.
423. Hokanson JE, Austin MA. Plasma triglyceride level is a risk factor for cardiovascular disease independent of high-density lipoprotein cholesterol level: a meta-analysis of population-based prospective studies. *Journal of cardiovascular risk*. 1996;3(2):213-9.
424. Sarwar N, Danesh J, Eiriksdottir G, et al. Triglycerides and the risk of coronary heart disease: 10,158 incident cases among 262,525 participants in 29 Western prospective studies. *Circulation*. 2007;115(4):450-8.
425. Varbo A, Benn M, Tybjaerg-Hansen A, et al. Remnant cholesterol as a causal risk factor for ischemic heart disease. *Journal of the American College of Cardiology*. 2013;61(4):427-36.
426. Murad MH, Hazem A, Coto-Yglesias F, et al. The association of hypertriglyceridemia with cardiovascular events and pancreatitis: a systematic review and meta-analysis. *BMC endocrine disorders*. 2012;12:2.
427. Sarwar N, Sandhu MS, Ricketts SL, et al. Triglyceride-mediated pathways and coronary disease: collaborative analysis of 101 studies. *Lancet*. 2010;375(9726):1634-9.
428. Jorgensen AB, Frikke-Schmidt R, West AS, et al. Genetically elevated non-fasting triglycerides and calculated remnant cholesterol as causal risk factors for myocardial infarction. *European heart journal*. 2013;34(24):1826-33.
429. Thomsen M, Varbo A, Tybjaerg-Hansen A, et al. Low nonfasting triglycerides and reduced all-cause mortality: a mendelian randomization study. *Clin Chem*. 2014;60(5):737-46.

430. Jorgensen AB, Frikke-Schmidt R, Nordestgaard BG, et al. Loss-of-function mutations in APOC3 and risk of ischemic vascular disease. *The New England journal of medicine*. 2014;371(1):32-41.
431. Crosby J, Peloso GM, Auer PL, et al. Loss-of-function mutations in APOC3, triglycerides, and coronary disease. *The New England journal of medicine*. 2014;371(1):22-31.
432. Budoff M. Triglycerides and Triglyceride-Rich Lipoproteins in the Causal Pathway of Cardiovascular Disease. *The American journal of cardiology*. 2016;118(1):138-45.
433. Athyros VG, Tziomalos K, Karagiannis A, et al. Genetic, epidemiologic and clinical data strongly suggest that fasting or non-fasting triglycerides are independent cardiovascular risk factors. *Curr Med Res Opin*. 2015;31(3):435-8.
434. Jun M, Foote C, Lv J, et al. Effects of fibrates on cardiovascular outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Lancet*. 2010;375(9729):1875-84.
435. Frick MH, Elo O, Haapa K, et al. Helsinki Heart Study: primary-prevention trial with gemfibrozil in middle-aged men with dyslipidemia. Safety of treatment, changes in risk factors, and incidence of coronary heart disease. *The New England journal of medicine*. 1987;317(20):1237-45.
436. Tenkanen L, Manttari M, Kovanen PT, et al. Gemfibrozil in the treatment of dyslipidemia: an 18-year mortality follow-up of the Helsinki Heart Study. *Archives of internal medicine*. 2006;166(7):743-8.
437. Haim M, Benderly M, Brunner D, et al. Elevated serum triglyceride levels and long-term mortality in patients with coronary heart disease: the Bezafibrate Infarction Prevention (BIP) Registry. *Circulation*. 1999;100(5):475-82.
438. Chapman MJ, Ginsberg HN, Amarenco P, et al. Triglyceride-rich lipoproteins and high-density lipoprotein cholesterol in patients at high risk of cardiovascular disease: evidence and guidance for management. *European heart journal*. 2011;32(11):1345-61.
439. Secondary prevention by raising HDL cholesterol and reducing triglycerides in patients with coronary artery disease. *Circulation*. 2000;102(1):21-7.
440. Tenenbaum A, Motro M, Fisman EZ, et al. Bezafibrate for the secondary prevention of myocardial infarction in patients with metabolic syndrome. *Archives of internal medicine*. 2005;165(10):1154-60.
441. Kyvelou SM, Vyssoulis GP, Karpanou EA, et al. Effects of antihypertensive treatment with angiotensin II receptor blockers on lipid profile: an open multi-drug comparison trial. *Hellenic journal of cardiology : HJC = Hellenike kardiologike epitheorese*. 2006;47(1):21-8.
442. Osterloh I. The safety of amlodipine. *American heart journal*. 1989;118(5 Pt 2):1114-9; discussion 9-20.
443. Musini VM, Nazer M, Bassett K, et al. Blood pressure-lowering efficacy of monotherapy with thiazide diuretics for primary hypertension. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2014;5:CD003824.
444. Ferrari P, Rosman J, Weidmann P. Antihypertensive agents, serum lipoproteins and glucose metabolism. *The American journal of cardiology*. 1991;67(10):26B-35B.
445. Weidmann P, Ferrier C, Saxenhofer H, et al. Serum lipoproteins during treatment with antihypertensive drugs. *Drugs*. 1988;35 Suppl 6:118-34.
446. Ferrari P, Weidmann P. Insulin, insulin sensitivity and hypertension. *Journal of hypertension*. 1990;8(6):491-500.
447. Lee IT, Hung YJ, Chen JF, et al. Comparison of the efficacy and safety profiles of two fixed-dose combinations of antihypertensive agents, amlodipine/benazepril versus valsartan/hydrochlorothiazide, in patients with type 2 diabetes mellitus and hypertension: a 16-week, multicenter, randomized, double-blind, noninferiority study. *Clinical therapeutics*. 2012;34(8):1735-50.