







**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ  
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ  
Β' ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

**ΠΟΣΟΤΙΚΕΣ ΚΑΙ ΠΟΙΟΤΙΚΕΣ ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΤΩΝ ΛΙΠΙΔΙΩΝ  
ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΟΞΕΙΕΣ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ**

**ΑΠΟΣΤΟΛΟΥ ΦΩΤΕΙΝΗ  
ΕΙΔΙΚΟΣ ΠΑΘΟΛΟΓΟΣ**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2011**



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



**Ημερομηνία αίτησης της κ Αποστόλου Φωτεινής:** 29-10-2002

**Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:** 489<sup>α</sup>/4-2-2003

**Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:**

Επιβλέπων

Ελισάφ Μουσής Καθηγητή Παθολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μέλη

Μπαϊρακτάρη Ελένη Επίκουρη Καθηγήτρια Βιολογικής Χημείας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Τσελέπης Αλέξανδρος Αναπληρωτής Καθηγητής Τμήματος Χημείας Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

**Ημερομηνία ορισμού θέματος:** 11-2-2003

*«Ποσοτικές και ποιοτικές διαταραχές των λιπιδίων και λιποπρωτεϊνών σε ασθενείς με οξείες λοιμώξεις»*

**ΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ :** 721<sup>α</sup>/11-10-2011

<b>Γουδέβενος Ιωάννης</b>	Καθηγητής Παθολογίας –Καρδιολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
<b>Δρόσος Αλέξανδρος</b>	Καθηγητής Παθολογίας –Ρευματολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
<b>Ελισάφ Μουσής</b>	Καθηγητής Παθολογίας, Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
<b>Τσελέπης Αλέξανδρος</b>	Καθηγητής Βιοχημείας Τμήματος Χημείας Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
<b>Μπαϊρακτάρη Ελένη</b>	Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Κλινικής Χημείας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
<b>Διάμης Γεώργιος</b>	Επίκουρος Καθηγητής Παθολογίας, Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
<b>Τσιμιχόδημος Βασίλειος</b>	Λέκτορας Παθολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Έγκριση Διδακτορικής Διατριβής με βαθμό «ΑΡΙΣΤΑ» στις 10-11-2011

**ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΤΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ**

**Μαργαρίτα Τζαφλίδου**

Καθηγήτρια Ιατρικής Φυσικής







Στους γονείς μου Μιχάλη και Χριστούλα  
και στην αδερφή μου Τζένη



## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Την επίβλεψη και άμεση καθοδήγηση της παρούσας διατριβής είχε ο Καθηγητής Παθολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων και Διευθυντής της Β΄ Παθολογικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων κ. Μωυσής Ελισάφ. Η βοήθειά του και η συμπαράστασή του, καθώς και οι πολύτιμες υποδείξεις του έκαναν δυνατή την πραγματοποίηση της παρούσας μελέτης. Θα ήθελα να τον ευχαριστήσω για την εμπιστοσύνη που έδειξε στο πρόσωπό μου και για τις ατελείωτες ώρες που αφιέρωσε στην αξιολόγηση των αποτελεσμάτων και τη διόρθωση του χειρογράφου. Η συνεργασία μας ήταν εξαιρετική τιμή για μένα.

Το μεγαλύτερο μέρος της διατριβής εκπονήθηκε στο Ερευνητικό Εργαστήριο Λιπιδίων και Λιποπρωτεϊνών του Τομέα Οργανικής Χημείας και Βιοχημείας του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων υπό την επίβλεψη και καθοδήγηση του Καθηγητή κ. Αλέξανδρου Τσελέπη. Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον κ. Τσελέπη για την υποστήριξή του, για το ειλικρινές ενδιαφέρον του και για την κριτική επεξεργασία των αποτελεσμάτων.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω την κ Ελένη Μπαϊρακτάρη, αναπληρώτρια καθηγήτρια Κλινικής Χημείας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, για το ενδιαφέρον και τη βοήθειά της, καθώς και για τη συμβολή της στη σύνταξη της παρούσας διατριβής.

Ευχαριστώ τα υπόλοιπα μέλη της επταμελούς επιτροπής κ Ιωάννη Γουδέβενο, κ Αλέξανδρο Δρόσο, κ Γεώργιο Λιάμη και κ Βασίλειο Τσιμηχόδημο.

Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ Ευάγγελο Λυμπερόπουλο, λέκτορα Παθολογίας, ο οποίος υπήρξε σταθερός συμπαροστάτης μου κατά τη διάρκεια της διδακτορικής μου διατριβής, την κ Ειρήνη Γαζή διότι όλα αυτά τα χρόνια ήταν πολύτιμος συνεργάτης στις προσπάθειές μου, τον κ Κων/νο Τέλλη και την κ Χριστίνα Κωσταρά για την άριστη συνεργασία μας.

Ευχαριστώ θερμά όλους τους ιατρούς της Β΄ Παθολογικής Κλινικής και του Ιατρείου Διαταραχών του Μεταβολισμού των Λιπιδίων του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων, για τη βοήθειά τους στη στρατολόγηση των ασθενών και τη συλλογή των βιολογικών δειγμάτων.



## ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

### ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

#### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
1.1 Αθηρωμάτωση και φλεγμονή	1
1.2 Μελέτες που συσχετίζουν τις λοιμώξεις με την αθηρωμάτωση	4
1.3 Μεταβολισμός των λιποπρωτεϊνών	8

#### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΛΟΙΜΩΞΕΩΝ ΣΤΑ TG ΚΑΙ ΤΑ VLDL ΣΩΜΑΤΙΔΙΑ	13
2.1 Γενικά	13
2.1.1 Αύξηση της παραγωγής των VLDL	16
2.1.1.1 Αύξηση της σύνθεσης των λιπαρών οξέων και των τριγλυκεριδίων	16
2.1.1.2 Αύξηση της λιπόλυσης στο λιπώδη ιστό	18
2.1.1.3 Ελάττωση της ηπατικής οξειδωσης των λιπαρών οξέων και καταστολή της κετογένεσης	19
2.1.2 Ελάττωση της κάθαρσης των VLDL	21
2.1.3 Ο ρόλος των VLDL σε οξείες λοιμώξεις	22

#### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΛΟΙΜΩΞΕΩΝ ΣΤΗ ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ ΚΑΙ ΤΑ LDL ΣΩΜΑΤΙΔΙΑ	23
3.1 Η επίδραση των λοιμώξεων στη χοληστερόλη	23
3.1.1 Μεταβολές στη σύνθεση της χοληστερόλης στο ήπαρ	23
3.1.1.1 Μεταβολές στη σύνθεση της χοληστερόλης στο ήπαρ σε τρωκτικά	23
3.1.1.2 Μεταβολές στη σύνθεση της χοληστερόλης στο ήπαρ στον άνθρωπο	24
3.1.2 Επίδραση των λοιμώξεων στον καταβολισμό και την αποβολή της χοληστερόλης	25

3.1.2.1 Ο καταβολισμός της χοληστερόλης – γενικά	25
3.1.2.2 Οι LPS και οι κυτταροκίνες παρεμποδίζουν τον καταβολισμό και την αποβολή της χοληστερόλης	27
3.1.2.3 Η ενδοηπατική χολόσταση και ο μεταβολισμός της χοληστερόλης	28
3.2 Η επίδραση των λοιμώξεων στα LDL σωματίδια	28
3.2.1 Ο μεταβολισμός των LDL σε οξείες λοιμώξεις	28
3.2.2 Lp(a) και οξεία λοίμωξη	31

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4**

Ο ΡΟΛΟΣ ΚΑΙ ΟΙ ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΤΩΝ HDL ΣΕ ΟΞΕΙΑ ΛΟΙΜΩΞΗ	33
4.1 Οι HDL περιορίζουν τις βλαπτικές επιδράσεις της οξείας λοίμωξης	33
4.2 Οι ποσοτικές και οι ποιοτικές μεταβολές των HDL σε οξείες λοιμώξεις	34
4.2.1 Οι πρωτεΐνες των HDL μεταβάλλονται και οι HDL χάνουν την ικανότητά τους να προστατεύουν τις LDL από την οξειδωση	34
4.2.2 Οι οξείες λοιμώξεις επηρεάζουν την ανάστροφη μεταφορά χοληστερόλης (RCT)	35
4.2.3 Οι HDL και η HDL-C ελαττώνονται σε οξείες λοιμώξεις	37
4.2.4 Μεταβάλλεται η σύνθεση των HDL	38

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5**

ΑΠΟΛΙΠΟΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΚΑΙ ΛΟΙΜΩΞΗ	41
5.1 ApoA1	41
5.2 ApoB	42
5.3 ApoE	42
5.4 ApoCs	44

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6**

ΟΙ ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΤΩΝ ΛΙΠΟΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΗΣ ΛΟΙΜΩΞΗΣ/ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ ΣΥΝΕΙΣΦΕΡΟΥΝ ΣΤΗΝ ΑΜΥΝΑ ΤΟΥ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥ	47
6.1 Βακτήρια	47

6.2 Ιοί	51
6.3 Παράσιτα	52
6.4 Μεταβολές των λιποπρωτεϊνών και άμυνα	52

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7**

sdLDL ΣΩΜΑΤΙΔΙΑ	55
7.1 Σχηματισμός των sdLDL σωματιδίων	55
7.2 Αθηρογόνος δυνατότητα των sdLDL σωματιδίων	56
7.3 Συσχέτιση με την εμφάνιση της καρδιαγγειακής νόσου	56
7.4 Η επίδραση της λοίμωξης/φλεγμονής στα υποκλάσματα της LDL	57

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8**

Η ΣΥΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΗ ΜΕ ΛΙΠΟΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΦΩΣΦΟΛΙΠΑΣΗ A2 (Lp-PLA <sub>2</sub> )	59
8.1. Lp-PLA <sub>2</sub> – Γενικά	59
8.1.1 Δομή – Λειτουργία	59
8.1.2 Γονίδιο της Lp-PLA <sub>2</sub> και μεταλλάξεις	59
8.1.3 Η κυτταρική πηγή προέλευσης και η μεταφορά της Lp-PLA <sub>2</sub> του πλάσματος	61
8.1.4. Παράγοντες που ρυθμίζουν την έκκριση της Lp-PLA <sub>2</sub>	62
8.2 Lp-PLA <sub>2</sub> του πλάσματος και αθηρογένεση	63
8.3 Ο ρόλος της Lp-PLA <sub>2</sub> των HDL	65
8.4 Lp-PLA <sub>2</sub> και λοίμωξη	66
8.4.1 Μελέτες που αφορούν τις μεταβολές της Lp-PLA <sub>2</sub> σε λοίμωξη	66
8.4.2 Μηχανισμοί που συσχετίζονται με τις μεταβολές της Lp-PLA <sub>2</sub> σε οξεία λοίμωξη	70
8.4.2.1 Η ενεργοποίηση του συστήματος μονοπύρηνων-μακροφάγων	70
8.4.2.2 Επίδραση της κορτιζόλης	71
8.4.2.3 Μεταβολές των λιποπρωτεϊνών κατά τη διάρκεια της λοίμωξης	71
8.4.2.4 Αύξηση της παραγωγής της Lp-PLA <sub>2</sub> με την επίδραση του PAF	71
8.4.2.5 Επίδραση των ενδοτοξινών και των κυτταροκινών	71

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9**

ΠΑΡΑΟΞΟΝΑΣΗ (PON1)	75
9.1 Δομή – Λειτουργία	75
9.1.1 Αντιοξειδωτικές ιδιότητες της PON1	75
9.1.2 Γονίδιο και γενετικοί πολυμορφισμοί της PON1	76
9.2 Παράγοντες που επηρεάζουν την ενεργότητα της PON1	77
9.3 PON1 και νοσήματα	78
9.4 PON1 και λοιμώξεις	79
9.4.1 Μελέτες των μεταβολών της PON1 σε λοιμώξεις	79
9.4.2 Μηχανισμοί που συσχετίζονται με τις μεταβολές της PON1 σε ασθενείς με λοιμώξεις	81
9.4.2.1 Οι μεταβολές στη σύνθεση και την έκκριση των HDL και ApoA1	81
9.4.2.2 Επίδραση των ενδοτοξινών και των κυτταροκινών	81
9.4.2.3 Η επίδραση της oxLDL στην PON	83
9.4.3 Η αλληλεπίδραση της PON με μικρόβια και αντιβιοτικά	83

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 10**

### **ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ**

10.1 ΒΡΟΥΚΕΛΛΩΣΗ	85
10.1.1 Εισαγωγή	85
10.1.2 Παθογένεια – ο ρόλος των κυτταροκινών	85
10.1.3 Κλινική εικόνα	86
10.1.4 Διάγνωση	86
10.1.5 Θεραπεία	88
10.2 ΛΟΙΜΩΞΗ ΑΠΟ ΤΟΝ ΙΟ EPSTEIN BARR	88
10.2.1 Εισαγωγή	88
10.2.2 Εργαστηριακά ευρήματα	89
10.2.3 Διάγνωση	89
10.2.4 Κλινική εικόνα- Επιπλοκές	90
10.3 ΛΕΠΤΟΣΠΕΙΡΩΣΗ	91
10.3.1 Εισαγωγή	91
10.3.2 Κλινική εικόνα-Επιπλοκές	91
10.3.3 Εργαστηριακά ευρήματα	92



10.3.4 Διάγνωση	92
10.3.5 Θεραπεία	92
<b>ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ</b>	<b>93</b>
<b>ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b>	<b>95</b>
ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	95
ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	95
ΜΕΘΟΔΟΙ	97
Προσδιορισμός των βιοχημικών παραμέτρων	97
Η ενεργότητα της CETP	98
Προσδιορισμός της CRP, των κυτταροκινών και των ειδικών αντισωμάτων	98
Ανάλυση των υποκλάσμάτων των LDL με τη χρησιμοποίηση του Lipoprint LDL System	98
Προσδιορισμός της ενζυμικής ενεργότητας της Lp-PLA <sub>2</sub>	101
Προσδιορισμός της ενεργότητας της PON1	104
Προσδιορισμός της ενεργότητας της PON1 με υπόστρωμα το paraoxon [PON1 (paraoxon)]	104
Προσδιορισμός της ενεργότητας της PON1 με υπόστρωμα το phenylacetate [PON1 (phenylacetate)]	105
<b>ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ</b>	<b>107</b>
<b>ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ</b>	
Το λιπιδαιμικό προφίλ των ασθενών με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα	109
Τα υποκλάσματα των LDL στους ασθενείς με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα	109
Η ενεργότητα της Lp-PLA <sub>2</sub> στους ασθενείς με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα	110
Οι ενεργότητες της PON1 (paraoxonase, arylesterase) στους ασθενείς με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα	111

Οι κυτταροκίνες και η CRP των ασθενών με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα	111
Το αιματολογικό προφίλ των ασθενών με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα	111
Το λιπιδαιμικό προφίλ των ασθενών με οξεία λοίμωξη από τον ιό EBV	119
Οι κυτταροκίνες, η CRP και το αιματολογικό προφίλ των ασθενών με οξεία λοίμωξη από τον ιό EBV	120
Οι ενεργότητες της Lp-PLA <sub>2</sub> , της PON1 (paraoxonase, arylesterase) στους ασθενείς με οξεία λοίμωξη από τον ιό EBV	121
Το λιπιδαιμικό προφίλ των ασθενών με λεπτοσπείρωση	128
Η ενεργότητα της Lp-PLA <sub>2</sub> και οι ενεργότητες της PON1 (paraoxonase, arylesterase) στους ασθενείς με λεπτοσπείρωση	128
Οι κυτταροκίνες και η CRP των ασθενών με λεπτοσπείρωση	129
Οι συσχετίσεις μεταξύ των λιπιδίων και των λιποπρωτεϊνών των ασθενών με λεπτοσπείρωση με τις κυτταροκίνες και τη CRP	129
<b>ΣΥΖΗΤΗΣΗ</b>	135
<b>ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ</b>	149
<b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ</b>	153
<b>SUMMARY</b>	155
<b>ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ</b>	157
<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</b>	159

## ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΕΙΚΟΝΩΝ

<b>Εικόνες 1,2.</b> Η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και ο σχηματισμός των λιπαρών ραβδώσεων (fatty streaks)	2
<b>Εικόνες 3,4.</b> Ο σχηματισμός και η ρήξη της αθηρωματικής πλάκας	3
<b>Εικόνα 5.</b> Μεταβολές στον ηπατικό μεταβολισμό των λιπαρών οξέων κατά τη διάρκεια της APR (acute-phase response)	17
<b>Εικόνα 6.</b> Μεταβολές στο μεταβολισμό της χοληστερόλης κατά τη διάρκεια της APR (acute-phase response) σε τρωκτικά	24
<b>Εικόνα 7.</b> Μεταβολές στο μεταβολισμό των χολικών οξέων κατά τη διάρκεια της APR (acute-phase response)	26
<b>Εικόνα 8.</b> Οι μεταβολές στην ανάστροφη μεταφορά χοληστερόλης κατά την APR	36
<b>Εικόνα 9.</b> Υδρόλυση του PAF από την Lp-PLA <sub>2</sub>	60
<b>Εικόνα 10.</b> Υδρόλυση των οξειδωμένων φωσφολιπιδίων από την Lp-PLA <sub>2</sub>	60
<b>Εικόνα 11.</b> Η δημιουργία lysoPC και οξειδωμένων μη εστεροποιημένων λιπαρών οξέων (oxFA) κατά τη δράση της Lp-PLA <sub>2</sub> στην οξειδωμένη LDL (oxLDL) επάγει το σχηματισμό της αθηρωματικής πλάκας	64
<b>Εικόνα 12.</b> Επίπεδα χοληστερόλης στα μικρά πυκνά LDL (sdLDL) σωματίδια σε ασθενείς με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα	115
<b>Εικόνα 13.</b> Διάμετρος των LDL σωματιδίων σε ασθενείς με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα	115
<b>Εικόνα 14.</b> Η συσχέτιση της αύξησης των επιπέδων της LDL-C 4 μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης από τον ιό EBV με την ελάττωση των επιπέδων της IL-6	124
<b>Εικόνα 15.</b> Η συσχέτιση της αύξησης της μέσης διαμέτρου των LDL σωματιδίων 4 μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης από τον ιό EBV με την ελάττωση των επιπέδων του TNFα	124
<b>Εικόνα 16.</b> Η ενεργότητα της PON1 (paraoxonase) σε ασθενείς με λοίμωξη από τον ιό EBV	127
<b>Εικόνα 17.</b> η ενεργότητα της PON1 (arylesterase) σε ασθενείς με λοίμωξη από τον ιό EBV	127

## ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΠΙΝΑΚΩΝ

<b>Πίνακας 1.</b> Επίδραση των LPS, του LTA και των κυτταροκινών στο μεταβολισμό των TG υγιών ζώων	14
<b>Πίνακας 2.</b> Μελέτες για τις μεταβολές της Lp-PLA <sub>2</sub> σε λοίμωξη	69
<b>Πίνακας 3.</b> Παράγοντες που συσχετίζονται με λοίμωξη/φλεγμονή και επηρεάζουν την έκφραση της Lp-PLA <sub>2</sub>	73
<b>Πίνακας 4.</b> Μελέτες για τις μεταβολές της PON σε ασθενείς με λοιμώξεις	79
<b>Πίνακας 5.</b> Οδηγίες για τη θεραπεία της μη επιπλεγμένης βρουκέλλωσης	87
<b>Πίνακας 6.</b> Κλινικά χαρακτηριστικά και λιπιδαιμικό προφίλ της ομάδας ελέγχου και των ασθενών με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα	113
<b>Πίνακας 7.</b> Ποσοτικές και ποιοτικές παράμετροι του μεταβολισμού των λιπιδίων της ομάδας ελέγχου και των ασθενών με λοίμωξη από βρουκέλλα	114
<b>Πίνακας 8.</b> Οι ενεργότητες της Lp-PLA <sub>2</sub> , της PON1 (paraoxonase) και της PON1 (arylesterase) της ομάδας ελέγχου και των ασθενών με λοίμωξη από βρουκέλλα	116
<b>Πίνακας 9.</b> Τα επίπεδα των κυτταροκινών και το αιματολογικό προφίλ της ομάδας ελέγχου και των ασθενών με λοίμωξη από βρουκέλλα	117
<b>Πίνακας 10.</b> Πολυπαραγοντική ανάλυση για την εκτίμηση της συγκέντρωσης της sdLDL-C (sdLDL%) καθώς και για την εκτίμηση της μέσης διαμέτρου των LDL σωματιδίων των ασθενών με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα	118
<b>Πίνακας 11.</b> Πολυπαραγοντική ανάλυση για την εκτίμηση της ενεργότητας της ολικής Lp-PLA <sub>2</sub> του πλάσματος των ασθενών με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα	118
<b>Πίνακας 12.</b> Κλινικά χαρακτηριστικά και λιπιδαιμικό προφίλ της ομάδας ελέγχου και των ασθενών με λοίμωξη από τον ιό EBV	122
<b>Πίνακας 13.</b> Ποσοτικές και ποιοτικές παράμετροι του μεταβολισμού των λιπιδίων της ομάδας ελέγχου και των ασθενών με λοίμωξη από τον ιό EBV	123

<b>Πίνακας 14.</b> Τα επίπεδα των κυτταροκινών και το αιματολογικό προφίλ της ομάδας ελέγχου και των ασθενών με λοίμωξη από τον ιό EBV	125
<b>Πίνακας 15.</b> Οι ενεργότητες της Lp-PLA <sub>2</sub> , της PON1 (paraoxonase) και της PON1 (arylesterase) της ομάδας ελέγχου και των ασθενών με λοίμωξη από τον ιό EBV	126
<b>Πίνακας 16.</b> Κλινικά χαρακτηριστικά και λιπιδαιμικό προφίλ της ομάδας ελέγχου και των ασθενών με λεπτοσπείρωση	131
<b>Πίνακας 17.</b> Ποσοτικές και ποιοτικές παράμετροι του μεταβολισμού των λιπιδίων της ομάδας ελέγχου και των ασθενών με λεπτοσπείρωση	132
<b>Πίνακας 18.</b> Οι ενεργότητες της Lp-PLA <sub>2</sub> , της PON1 (paraoxonase) και της PON1 (arylesterase) της ομάδας ελέγχου και των ασθενών με λεπτοσπείρωση	133
<b>Πίνακας 19.</b> Τα επίπεδα των κυτταροκινών και το αιματολογικό προφίλ της ομάδας ελέγχου και των ασθενών με λεπτοσπείρωση	134



## ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

#### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

##### 1.1 ΑΘΗΡΩΜΑΤΩΣΗ ΚΑΙ ΦΛΕΓΜΟΝΗ

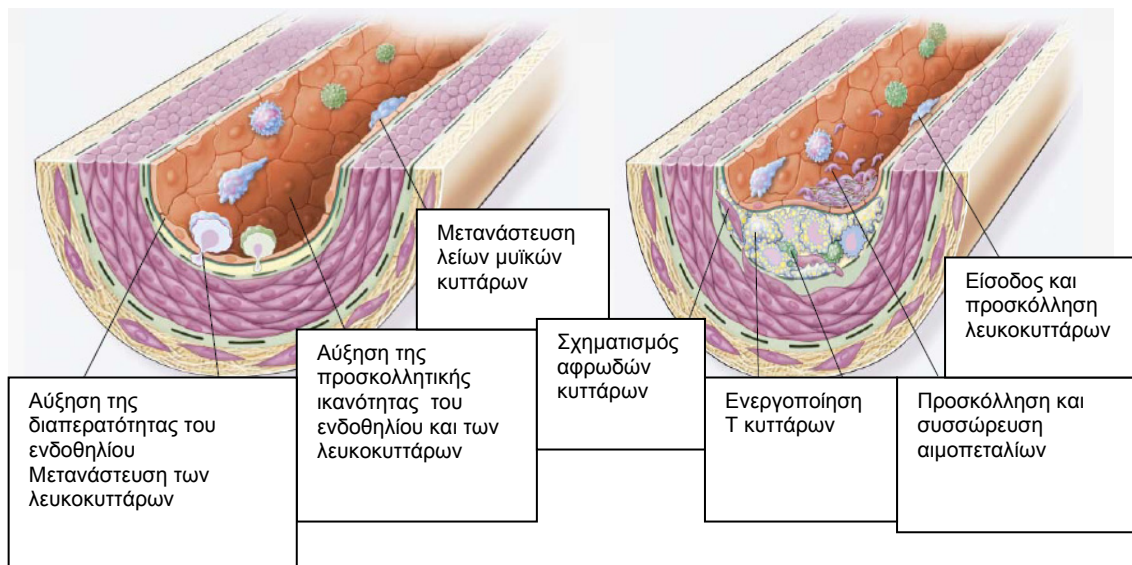
Παρά την πρόοδο που έχει σημειωθεί στην πρόληψη και τη θεραπεία της καρδιαγγειακής νόσου, η αθηροσκλήρωση παραμένει η κύρια αιτία θανάτου στις αναπτυγμένες χώρες. Η ανάγκη για την αντιμετώπιση του προβλήματος οδήγησε τους ερευνητές σε μια σημαντική προσπάθεια για την κατανόηση των υποκείμενων μηχανισμών της αθηροσκλήρωσης. Έτσι, πολλές μελέτες αποκάλυψαν ότι πολύπλοκοι και σύνθετοι μηχανισμοί αλληλεπίδρασης μεταξύ του αγγειακού τοιχώματος, των συστατικών του αίματος και εξωγενών παραγόντων προσδίδουν στην αθηρογένεση τα χαρακτηριστικά μιας χρόνιας φλεγμονώδους διαδικασίας<sup>1</sup> (**εικόνες 1,2,3,4**).

Οι Friedman<sup>2</sup>, Kostis<sup>3</sup> και Lowe<sup>4</sup> έδειξαν ότι ο βαθμός της λευκοκυττάρωσης συσχετίζεται με τη σοβαρότητα της αθηρωμάτωσης των στεφανιαίων αγγείων. Επιπρόσθετα, η χημειοταξία των ουδετερόφιλων είναι αυξημένη σε ασθενείς με ασταθή στηθάγχη και έμφραγμα του μυοκαρδίου<sup>5</sup>. Επιπρόσθετα, μεταγενέστερες μελέτες έδειξαν ότι η λευκοκυττάρωση αποτελεί προγνωστικό δείκτη για την έκβαση της καρδιαγγειακής νόσου (cardiovascular disease, CVD)<sup>6,7</sup>.

Πρέπει επίσης να αναφερθεί ότι οι ασθενείς με οξύ στεφανιαίο σύνδρομο έχουν αυξημένη δραστηριότητα της ελαστάσης των ουδετερόφιλων στο πλάσμα. Η ελαστάση των ουδετερόφιλων προκαλεί βλάβη του ενδοθηλίου και διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην εξέλιξη της αθηρωματικής πλάκας<sup>5,8</sup>.

Η μυελουπεροξειδάση (MPO) είναι μια αιμοπρωτεΐνη με ιδιότητες ενζύμου που βρίσκεται στα αζουρόφιλα κοκκία των ουδετερόφιλων και των μακροφάγων. Η MPO αυξάνεται σε καταστάσεις φλεγμονής και έχει σημαντικές ιδιότητες που ευοδώνουν τη φλεγμονή. Σε πρόσφατη ανασκόπηση παλαιότερων μελετών για το ρόλο της MPO στην αθηρωμάτωση βρέθηκε ότι η MPO πιθανά αποτελεί ένα δείκτη της αθηρωματικής νόσου που μπορεί να μετρηθεί στο περιφερικό αίμα<sup>9</sup>.

Πολυάριθμες μελέτες συσχέτισαν τους παράγοντες που ευοδώνουν τη φλεγμονή με την καρδιαγγειακή νόσο.



**Εικόνες 1,2<sup>1</sup>. Η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και ο σχηματισμός των λιπαρών ραβδώσεων (fatty streaks)**

**Εικόνα 1<sup>1</sup>. Το αρχικό στάδιο της αθηρωμάτωσης και η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία**

Αρχικά αυξάνεται η διαπερατότητα του ενδοθηλίου σε συστατικά του πλάσματος με την επίδραση του NO, της προστακυκλίνης, του PDGF, της αγγειοτενσίνης II και της ενδοθηλίνης. Στη συνέχεια αυξάνεται η ικανότητα προσκόλλησης των λευκοκυττάρων με την επίδραση της L-selectin, των ιντεγκρινών και του PECAM-1. Επιπρόσθετα, αυξάνεται η ικανότητα προσκόλλησης στο ενδοθήλιο με τη μεσολάβηση της E-selectin, της P-selectin, του ICAM-1 και του VCAM-1. Τέλος, παράγοντες, όπως η ox-LDL, ο MCP, η IL-8, ο PDGF, ο GM-CSF και η OPN ευνοούν τη μετανάστευση των λευκοκυττάρων υπενδοθηλιακά.

**Εικόνα 2<sup>1</sup>. Οι λιπώδεις ραβδώσεις**

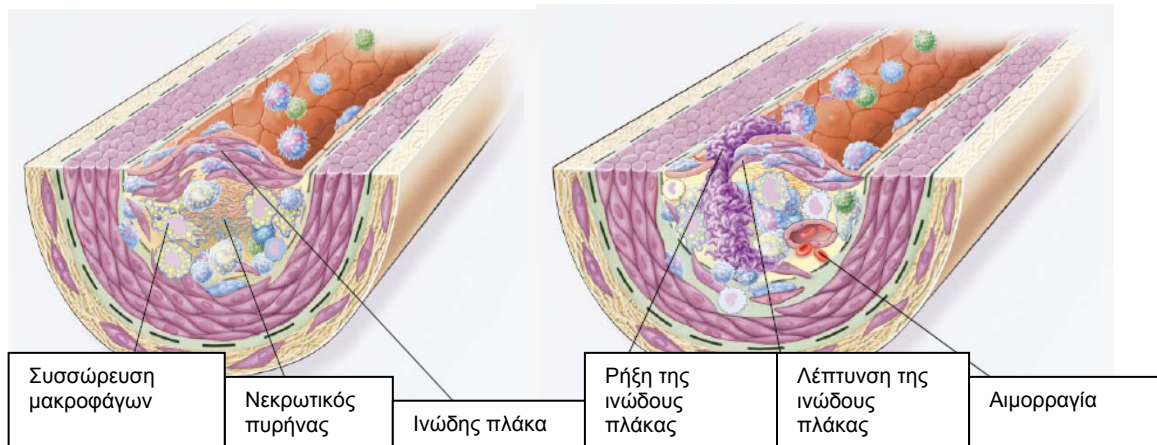
Αρχικά, οι λιπώδεις ραβδώσεις αποτελούνται από λιπίδια, μονοκύτταρα, αφρώδη κύτταρα και T λεμφοκύτταρα, ενώ στη συνέχεια προστίθενται λεία μυϊκά κύτταρα.

Τα στάδια για τη δημιουργία των λιπωδών ραβδώσεων είναι:

α) Μετανάστευση λείων μυϊκών κυττάρων με την επίδραση του PDGF, του FGF2 και του TGFβ. β) Ενεργοποίηση των T κυττάρων με την επίδραση του TNFα, της IL-2 και του GM-CSF. γ) Δημιουργία των αφρωδών κυττάρων με την επίδραση της ox-LDL, του M-CSF, του TNFα και της IL-1. δ) Προσκόλληση και συσσώρευση αιμοπεταλίων με την επίδραση των ιντεγκρινών, της P-selectin, της ινικής, της TXA2, του TF και των παραγόντων φλεγμονής που συμμετέχουν στη συσσώρευση και μετανάστευση των λευκοκυττάρων και περιγράφονται παραπάνω.

FGF2: fibroblast growth factor 2, GM-CSF: macrophage colony-stimulating factor, ICAM-1: intercellular adhesion molecule-1, IL: interleukin, MCP: Monocyte chemotactic protein, M-CSF: macrophage colony-stimulating factor, NO: nitric oxide, OPN: osteopontin, ox-LDL: oxidized low-density lipoprotein, PDGF: platelet-derived growth factor, PECAM-1: platelet–endothelial-cell adhesion molecule 1, VCAM-1: vascular-cell adhesion molecule-1, TGFβ: transforming growth factor b, TNFα: tumor necrosis factor a, TXA2: thromboxane A2





**Εικόνες 3,4<sup>1</sup>. Ο σχηματισμός και η ρήξη της αθηρωματικής πλάκας**

### **Εικόνα 3<sup>1</sup>. Σχηματισμός της αθηρωματικής πλάκας**

Εξαιτίας της φλεγμονής αναπτύσσεται ινώδης συνδετικός ιστός, ο οποίος καλύπτει το σύμπλεγμα των φλεγμονωδών κυττάρων και των λιπιδίων που σχηματίζουν ένα νεκρωτικό πυρήνα. Ο νεκρωτικός πυρήνας που είναι αποτέλεσμα της απόπτωσης και της νέκρωσης των κυττάρων, καθώς και της αυξημένης πρωτεολυτικής δραστηριότητας και της συσσώρευσης λιπιδίων, πυροδοτεί εκ νέου τη φλεγμονώδη αντίδραση. Η ανάπτυξη του ινώδους συνδετικού ιστού γίνεται με την επίδραση του PDGF, του TGFβ, της IL-1, του TNFα και της OPN.

### **Εικόνα 4<sup>1</sup>. Ασταθής ινώδης αθηρωματική πλάκα**

Η ρήξη ή η εξέλιξη της ινώδους πλάκας εμφανίζεται συχνότερα σε περιοχές λέπτυνσης και προκαλεί θρόμβωση. Η λέπτυνση της ινώδους πλάκας οφείλεται στη συσσώρευση και την ενεργοποίηση μακροφάγων, καθώς και την απελευθέρωση μεταλοπρωτεϊνών και άλλων πρωτεολυτικών ενζύμων. Αυτά τα ένζυμα προκαλούν αιμορραγία, το σχηματισμό θρόμβου και την απόφραξη της αρτηρίας.

IL: interleukin, OPN: osteopontin, PDGF: platelet-derived growth factor, TNFα: tumor necrosis factor α, TGFβ: transforming growth factor β

Για παράδειγμα σε ασθενείς με ασταθή στηθάγχη η δραστηριότητα των προσκολλητικών μορίων στα στεφανιαία αγγεία είναι αυξημένη<sup>10</sup>. Οι Sereni και συνεργάτες έδειξαν ότι τα λεμφοκύτταρα των ασθενών με ασταθή στηθάγχη επάγουν τη δραστηριότητα των μονοκυττάρων που ευοδώνουν τη διαδικασία πήξης του αίματος<sup>11</sup>. Άλλη μελέτη έδειξε ότι τα μακροφάγα και τα T λεμφοκύτταρα αυξάνονται στην περιοχή της ρήξης της πλάκας σε ασθενείς που πέθαναν από οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου<sup>12</sup>. Ακόμη, οι κυτταροκίνες [TNF $\alpha$  (tumor necrosis factor  $\alpha$ ), INF  $\gamma$  (interferon  $\gamma$ )] αυξάνονται σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο με αποτέλεσμα τη διέγερση των μονοκυττάρων και των ενδοθηλιακών κυττάρων, τη νεοαγγείωση, την αιμορραγική νέκρωση και το σχηματισμό θρόμβου<sup>13</sup>.

Επιπρόσθετα, οι κυτταροκίνες επιδρούν<sup>14</sup>: 1) στη διαπερατότητα του ενδοθηλίου, 2) στην ενεργοποίηση της έκφρασης μορίων προσκόλλησης και χυμοκινών, 3) στο μεταβολισμό των λιπιδίων, 4) στη μετανάστευση και τον πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών ινών, 5) στη ρύθμιση του ανασχηματισμού της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας, 6) στην κινητοποίηση των προγονικών κυττάρων των αγγείων, 7) στη ρύθμιση του σχηματισμού νέων αγγείων, 8) στην επαγωγή της απόπτωσης, 9) στη ρύθμιση των μηχανισμών της θρόμβωσης και της ινωδόλυσης, 10) στη ρύθμιση της ανοσολογικής απάντησης.

Τα τελευταία χρόνια η συσχέτιση της φλεγμονής με την αθηρωμάτωση υποστηρίζεται και από κλινικά δεδομένα. Για παράδειγμα η μελέτη JUPITER<sup>15</sup> (Justification for the Use of Statins in Primary Prevention: a Intervention Trial Evaluating Rosuvastatin) έδειξε ότι σε άνδρες >50 και γυναίκες >60 ετών χωρίς γνωστό ιστορικό καρδιαγγειακής νόσου με LDL-C (Low density lipoprotein-Cholesterol) < 130mg/dL και hs-CRP (high-sensitivity C-reactive protein)  $\geq 2$  mg/L η χορήγηση ροσουβαστατίνης μείωσε σημαντικά τα μείζονα καρδιαγγειακά επεισόδια, κυρίως στα άτομα εκείνα που εμφάνισαν ταυτόχρονα μείωση της LDL-C και της hs-CRP.

## **1.2 ΜΕΛΕΤΕΣ ΠΟΥ ΣΥΣΧΕΤΙΖΟΥΝ ΤΙΣ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ ΜΕ ΤΗΝ ΑΘΗΡΩΜΑΤΩΣΗ**

Η συσχέτιση της λοίμωξης από μικροοργανισμούς με την αθηρωμάτωση απασχολεί τους ερευνητές εδώ και πολλά χρόνια. Πολυάριθμες μελέτες

(ορολογικές, ανίχνευση του γενετικού υλικού των μικροβίων σε αθηρωματικές βλάβες των αγγείων, κλινικές μελέτες για την πιθανή αύξηση των καρδιαγγειακών επεισοδίων σε ασθενείς με έκθεση σε λοιμογόνους παράγοντες, μελέτες για την επίδραση των αντιβιοτικών στον καρδιαγγειακό κίνδυνο) συσχετίζουν τη λοίμωξη με την αθηρωμάτωση. Ωστόσο, σε πολλές μελέτες οι ερευνητές δεν προσδιόρισαν τις μεταβολές στο λιπιδαιμικό προφίλ των ασθενών με λοίμωξη και εστίασαν το ενδιαφέρον τους σε άλλους πιθανούς αθηρογενετικούς μηχανισμούς. Ενδεικτικά ορισμένες από αυτές τις μελέτες περιγράφονται παρακάτω:

Η λοίμωξη από **C. pneumoniae** (*Chlamydia pneumoniae*) αποτέλεσε το επίκεντρο της προσοχής για πολλά χρόνια<sup>16-21</sup>. Ενδεικτικά αναφέρεται ότι πραγματοποιήθηκε μια μετα-ανάλυση, η οποία έδειξε ότι η ανίχνευση του DNA του *C. pneumoniae* στα μονοπύρηνια του περιφερικού αίματος συσχετίζεται με CVD<sup>16</sup>. Επιπρόσθετα, σε δείγματα αθηρωματικών πλακών από ασθενείς με στεφανιαία νόσο ανιχνεύτηκε *C. pneumoniae* σε ποσοστό 79%, ενώ στην ομάδα ελέγχου το αντίστοιχο ποσοστό ήταν μόλις 4%<sup>17</sup>. Επιπλέον, έγιναν ορολογικές μελέτες, όπως αυτή των Wimmer και συνεργατών που έδειξε ότι σε 58 ασθενείς με αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο ηλικίας 18 έως 50 ετών ανιχνεύθηκαν IgG αντισώματα κατά του *C. Pneumoniae* σε ποσοστό 74,1%<sup>22</sup>.

Υπάρχουν επίσης μελέτες που συσχετίζουν τη λοίμωξη από **H. pylori** (*Helicobacter pylori*) με την αθηρωμάτωση και την εμφάνιση πρώιμου εμφράγματος του μυοκαρδίου<sup>23</sup>. Επιπλέον, άλλες μελέτες συσχετίζουν τη λοίμωξη από *H. pylori* με τη στεφανιαία νόσο, ανεξάρτητα από την παρουσία άλλων παραγόντων κινδύνου για CVD<sup>24-26</sup>. Ωστόσο, άλλοι ερευνητές δεν επιβεβαίωσαν αυτή τη σχέση<sup>27-29</sup>.

Η νόσος του Marek που οφείλεται σε ερπητιοϊό προκαλεί σε πτηνά αγγειακές βλάβες που μοιάζουν με τις αθηρωματικές βλάβες στους ανθρώπους<sup>30</sup>. Οι Benditt και συνεργάτες ανίχνευσαν το mRNA του ιού **HSV** (*Herpes simplex virus*) στη θωρακική αορτή ασθενών που υποβλήθηκαν σε αορτοστεφανιαία παράκαμψη<sup>31</sup>.

Με τη μέθοδο του ανοσοσοφθορισμού ανιχνεύτηκε ένα αντιγόνο του ιού **CMV** (*Cytomegalovirus*) συχνότερα στις κυτταροκαλλιέργειες αθηρωματικών πλακών, σε σύγκριση με τις κυτταροκαλλιέργειες υγιών ενδοθηλιακών

περιοχών<sup>32</sup>. Επιπρόσθετα, σε αρτηρίες ασθενών οροθετικών για CMV λοίμωξη ανιχνεύθηκε το DNA του CMV σε ποσοστό 90% στους ασθενείς με σοβαρή αθηρωμάτωση και σε ποσοστό 53% στους ασθενείς με ήπια αθηρωμάτωση<sup>33</sup>. Σε πολλούς ασθενείς με επαναστένωση μετά από αγγειοπλαστική ανιχνεύθηκε η πρωτεΐνη p53, η οποία συσχετίζεται με την παρουσία του ιού CMV στις αθηρωματικές βλάβες<sup>34</sup>. Μελέτες επίσης έδειξαν ότι η αθηροσκλήρωση του αλλομοσχεύματος σε ασθενείς με μεταμόσχευση καρδιάς επιταχύνεται όταν ο λήπτης μολυνθεί από τον ιό CMV<sup>35</sup>. Πρέπει επίσης να αναφερθεί ότι η λοίμωξη από τον ιό CMV συσχετίζεται με την εμφάνιση υπενδοθηλιακής φλεγμονής στα αλλομοσχεύματα σε πειραματόζωα και σε ανθρώπους<sup>36</sup>.

Ο ιός **EBV** (Epstein-Barr virus) προκαλεί σημαντική φλεγμονή και παραγωγή IL-6 (interleukin-6) από τα ενδοθηλιακά κύτταρα in vitro. Η προσβολή των ενδοθηλιακών κυττάρων από τον ιό EBV πιθανά είναι σημαντική για την εξέλιξη της αθηρωμάτωσης<sup>37</sup>. Μια ομάδα ερευνητών μελέτησε την έκφραση του γονιδίου Ebi3 (Epstein-Barr virus-induced gene 3) σε υλικό ενδαρτηρεκτομής. Το γονίδιο Ebi3 ρυθμίζει την έκφραση μιας γλυκοπρωτεΐνης που συσχετίζεται με την IL-27. Η μελέτη αυτή έδειξε ότι η έκφραση αυτού του γονιδίου συνεισφέρει στην τοπική φλεγμονή και την αγγειακή βλάβη<sup>38</sup>. Επιπρόσθετα, ανιχνεύτηκαν οι ιοί EBV, HSV-1 και CMV σε υλικό ενδαρτηρεκτομής<sup>39,40</sup>. Επιπλέον, σε ασθενείς μικρής ηλικίας με χρόνια σύνδρομο λοίμωξης από τον ιό EBV διαπιστώθηκαν σημαντικές βλάβες στα στεφανιαία αγγεία σε διάστημα λίγων ετών<sup>41</sup>. Ωστόσο, άλλοι ερευνητές έχουν αμφισβητήσει το ρόλο του ιού EBV στην εξέλιξη της αθηρωμάτωσης<sup>42-44</sup>.

Σε άλλη μελέτη ανιχνεύτηκε το RNA του ιού **Coxsackie B** σε δείγματα από το ενδοκάριο 50 ασθενών με αιφνίδιο θάνατο που χωρίστηκαν σε 3 ομάδες ανάλογα με την αιτία θανάτου: α) έμφραγμα του μυοκαρδίου, β) χωρίς εμφανή καρδιακή νόσο, γ) μη ισχαιμική μυοκαρδιοπάθεια. Το RNA του ιού Coxsackie B βρέθηκε στο 40% των ασθενών που πέθαναν από έμφραγμα του μυοκαρδίου<sup>45</sup>. Σε άλλη μελέτη σε 20 από τους 233 ασθενείς με έμφραγμα του μυοκαρδίου διαπιστώθηκε λοίμωξη από τον ιό Coxsackie B<sup>46</sup>.

Μελέτες έδειξαν ότι σε ασθενείς με λοίμωξη από τον ιό **HCV** (Hepatitis C Virus) ανιχνεύθηκε το RNA του ιού HCV σε υλικό αθηρωματικών πλακών

ασθενών που υποβλήθηκαν σε ενδαρτηρεκτομή<sup>47</sup>. Ωστόσο, άλλες μελέτες δεν έδειξαν συσχέτιση μεταξύ της HCV λοίμωξης και της αθηρωμάτωσης<sup>48,49</sup>.

Πολλές και σημαντικές μελέτες εκτίμησαν την επίδραση της **λοίμωξης από τον ιό HIV** (Human Immunodeficiency Virus) στην αθηρωμάτωση. Η χρήση των νέων φαρμάκων για την αντιμετώπιση της HIV λοίμωξης και η βελτίωση της επιβίωσης αυτών των ασθενών αύξησε τους θανάτους από άλλες αιτίες, όπως τα καρδιαγγειακά επεισόδια. Παρόλο που η αντιρετροϊκή θεραπεία συσχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο για την εμφάνιση CVD<sup>50</sup>, το όφελος της αντιρετροϊκής θεραπείας υπερτερεί σε σύγκριση με τους ενδεχόμενους κινδύνους για την εμφάνιση CVD σε ασθενείς που πάσχουν από HIV λοίμωξη<sup>51</sup>. Πρόσφατη δημοσίευση των καρδιαγγειακών επιπλοκών της HIV λοίμωξης συνοψίζει τα αποτελέσματα των κυριότερων σχετικών μελετών (Update on Cardiovascular Complications in HIV Infection)<sup>51</sup>: α) Παρατηρήθηκε αύξηση των θανάτων εξαιτίας καρδιαγγειακών επιπλοκών. β) Η CVD είναι η κύρια αιτία θανάτου σε ασθενείς με HIV λοίμωξη άνω των 55 ετών. γ) Αυξήθηκαν οι εισαγωγές στο νοσοκομείο για οξύ στεφανιαίο επεισόδιο σε ασθενείς που είναι οροθετικοί για HIV λοίμωξη. δ) Οι ασθενείς με HIV λοίμωξη έχουν υψηλότερα ποσοστά αθηροσκλήρωσης που εξελίσσεται ταχύτερα σε σύγκριση με τα υγιή άτομα. ε) Ο κίνδυνος για την εμφάνιση στεφανιαίου επεισοδίου σε ασθενείς με HIV λοίμωξη αυξήθηκε σημαντικά τα τελευταία χρόνια. Επιπλέον, πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι η HIV λοίμωξη ευνοεί την εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης ανεξάρτητα από την ιαμία και το βαθμό ανοσοανεπάρκειας και ότι η χρόνια φλεγμονή είναι ο πιο σημαντικός παράγοντας κινδύνου για την εμφάνιση πρώιμης αρτηριοσκλήρωσης<sup>52</sup>.

*Ο αριθμός των παθογόνων οργανισμών στις οποίες έχει εκτεθεί ένας ασθενής, είναι σημαντικός παράγοντας κινδύνου για αθηροσκλήρωση<sup>53</sup>.*

Το εύρημα αυτό προκύπτει από μια μελέτη με 375 ασθενείς που υποβλήθηκαν σε στεφανιογραφία. Ασθενείς με έκθεση σε 4 ή 5 λοιμογόνους παράγοντες (πιθανά υπεύθυνους για αθηρωμάτωση) και αυξημένα επίπεδα CRP είχαν σοβαρή στεφανιαία νόσο<sup>26,53-55</sup>. Επιπρόσθετα, η έκθεση σε μικρόβια αυξάνει τον κίνδυνο για έμφραγμα του μυοκαρδίου σε ασθενείς με γνωστή στεφανιαία νόσο<sup>29,56,57</sup>. Πράγματι, μια μελέτη με 1018 ασθενείς με τεκμηριωμένη στεφανιαία νόσο, έδειξε ότι ο κίνδυνος καρδιακού θανάτου ήταν πέντε φορές υψηλότερος στους ασθενείς που ήταν οροθετικοί για

περισσότερο από 5 λοιμογόνους παράγοντες σε σύγκριση με τους ασθενείς που ήταν οροθετικοί σε λιγότερο από 4 λοιμογόνους παράγοντες. Στη μελέτη αυτή η λοίμωξη από ερπητοϊούς ήταν σημαντικός επιβαρυντικός παράγοντας<sup>56</sup>. Επιπρόσθετα, μια ορολογική μελέτη με 3.168 ασθενείς υψηλού κινδύνου (ιστορικό στεφανιαίας νόσου, αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου, περιφερικής αγγειακής νόσου, διαβήτη) έδειξε ότι η έκθεση σε λοιμογόνους παράγοντες αύξησε σημαντικά τον κίνδυνο για έμφραγμα του μυοκαρδίου, εγκεφαλικό επεισόδιο, ή καρδιαγγειακό θάνατο<sup>57</sup>.

*Ωστόσο, τα τελευταία χρόνια πολλοί ερευνητές αμφισβητούν το ρόλο των λοιμώξεων στην εξέλιξη της αθηρωμάτωσης. Μελέτες έδειξαν ότι σε ασθενείς με τυπικά συμπτώματα στεφανιαίας ισχαιμίας, η παρελθούσα λοίμωξη με C. pneumoniae δεν είναι αιτία ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας<sup>58</sup>. Επιπρόσθετα, άλλη μελέτη δεν έδειξε συσχέτιση μεταξύ της παρελθούσας λοίμωξης από C. pneumoniae, CMV, EBV, ή H. pylori και της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας<sup>59</sup>. Επιπλέον, σε ηλικιωμένους ασθενείς η λοίμωξη από H. pylori, C. pneumoniae και CMV δεν συσχετίστηκε με αυξημένο κίνδυνο για καρδιαγγειακή νόσο<sup>60</sup>.*

***Οι παραπάνω παρατηρήσεις είναι ενδεικτικές για το σημαντικό ρόλο της φλεγμονής στην εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης. Οι κύριοι παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί με τους οποίους οι φλεγμονώδεις διαδικασίες εμπλέκονται στην αθηρωμάτωση είναι η επίδραση των παραγόντων φλεγμονής:***

***A. Στο μηχανισμό της πήξης<sup>61,62</sup>***

***B. Στην ενδοθηλιακή λειτουργία<sup>61,63</sup>***

***Γ. Στο μεταβολισμό των λιπιδίων και των λιποπρωτεϊνών<sup>61</sup>***

***Έτσι οι μικροοργανισμοί εκτός από την ικανότητά τους να επηρεάζουν άμεσα τα αγγεία, την ενδοθηλιακή λειτουργία και το μηχανισμό πήξης προκαλούν σημαντικές ποσοτικές και ποιοτικές μεταβολές στο μεταβολισμό των λιποπρωτεϊνών, οι οποίες περιγράφονται αναλυτικά στα επόμενα κεφάλαια.***

### **1.3 ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΛΙΠΟΠΡΩΤΕΪΝΩΝ**

Οι λιποπρωτεΐνες αποτελούνται από πρωτεΐνες και λιπίδια και χρησιμεύουν στη μεταφορά λιπιδίων. Διακρίνονται σε 5 κατηγορίες με βάση την πυκνότητά τους: α) Τα χυλομικρά, β) Οι πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (very

low density lipoproteins, VLDL), γ) Οι ενδιάμεσης πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (intermediate density lipoproteins, IDL), δ) Οι χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (low density lipoproteins, LDL), ε) Οι υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (high density lipoproteins, HDL). Η λιποπρωτεΐνη (a) [lipoprotein a Lp(a)] περιγράφηκε για πρώτη φορά το 1963 και έχει παρόμοια δομή με την LDL<sup>64</sup>.

Το διαιτητικό λίπος, μετά την απορρόφησή του από το γαστρεντερικό σωλήνα ενσωματώνεται στα πλούσια σε τριγλυκερίδια (triglycerides, TG) χυλομικρά<sup>65</sup>, τα οποία στην κυκλοφορία προσλαμβάνουν την απολιποπρωτεΐνη (apolipoprotein, apo) CII από τις HDL<sup>66</sup>. Τα χυλομικρά καταβολίζονται με τη βοήθεια της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης (lipoprotein lipase, LPL), η οποία εντοπίζεται στα τριχοειδή των σκελετικών μυών και του λιπώδους ιστού<sup>67</sup>. Η LPL υδρολύει τα TG των χυλομικρών με αποτέλεσμα την απελευθέρωση λιπαρών οξέων τα οποία είτε αποθηκεύονται στο λιπώδη ιστό, είτε χρησιμοποιούνται για την κάλυψη των ενεργειακών αναγκών. Τα κατάλοιπα (remnant) των χυλομικρών που προκύπτουν προσλαμβάνονται από τα παρεγχυματικά κύτταρα του ήπατος<sup>68</sup>. Τα κύτταρα αυτά έχουν μια πρωτεΐνη, η οποία συσχετίζεται με τον υποδοχέα των λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας LDL, (chylomicron remnant receptor, LRP) και την apoE. Το λιπιδιακό συστατικό των καταλοίπων των χυλομικρών μετά την είσοδο τους στα ηπατοκύτταρα είτε αποθηκεύεται, είτε καταβολίζεται, είτε επανεκκρίνεται ως ουσιαστικό συστατικό των ενδογενών πλούσιων σε TG λιποπρωτεϊνών, δηλαδή των πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών VLDL<sup>69</sup>.

Η ηπατική παραγωγή λιποπρωτεϊνών εξαρτάται από την παροχή γλυκόζης και λιπαρών οξέων στα ηπατοκύτταρα και επηρεάζεται σημαντικά από ορμονικούς παράγοντες και κυρίως από την ινσουλίνη<sup>69</sup>. Όπως και τα χυλομικρά, οι VLDL καταβολίζονται στην κυκλοφορία από την LPL. Το ένζυμο αυτό ενεργοποιείται από την apoCII, ενώ η apoCIII αναστέλλει τη δραστηριότητά του<sup>70</sup>. Με την επίδραση της LPL, οι VLDL μετατρέπονται στις ενδιάμεσης πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (IDL), οι οποίες αναφέρονται στη βιβλιογραφία ως κατάλοιπα των VLDL. Οι IDL είναι σχετικά πλούσιες σε χοληστερόλη και ένα μέρος τους προσλαμβάνεται άμεσα από τα ηπατοκύτταρα διαμέσου υποδοχέων που συνδέονται με την apoE (κατά πάσα πιθανότητα πρόκειται για τους ίδιους υποδοχείς που αναγνωρίζουν την apoB

των LDL). Οι υπόλοιπες IDL υφίστανται την επίδραση της ηπατικής λιπάσης (hepatic lipase, HL)<sup>71</sup> και μετατρέπονται σε LDL<sup>72</sup>. Οι LDL είναι πλούσιες σε χοληστερόλη και πτωχές σε TG, έχουν ως κύρια πρωτεΐνη την apoB100 και χρησιμεύουν για τη μεταφορά της χοληστερόλης στο πλάσμα.

Οι LDL μεταβολίζονται διαμέσου των LDL υποδοχέων, οι οποίοι υπάρχουν κυρίως στα ηπατοκύτταρα και αναγνωρίζουν την apoB100, δηλαδή την πρωτεΐνη που υπάρχει στην επιφάνεια των LDL<sup>73</sup>. Ο αριθμός και η δραστηριότητα των LDL υποδοχέων είναι καθοριστικής σημασίας για τη ρύθμιση της συγκέντρωσης των LDL στο πλάσμα. Έτσι, η μείωση της δραστηριότητας των LDL υποδοχέων έχει ως αποτέλεσμα όχι μόνο τη μείωση του καταβολισμού των LDL, αλλά και την αύξηση της σύνθεσης τους από τα κατάλοιπα των VLDL (IDL), αφού μικρότερο κλάσμα αυτών των σωματιδίων καταβολίζεται διαμέσου των LDL υποδοχέων. Ο αριθμός και η δραστηριότητα των LDL υποδοχέων εξαρτάται από τα επίπεδα της ελεύθερης χοληστερόλης στα ηπατοκύτταρα<sup>74</sup>. Πράγματι, η μείωση της ενδοκυττάριας συγκέντρωσης χοληστερόλης που οφείλεται στη χορήγηση υπολιπιδαιμικών φαρμάκων (είτε στατινών που μειώνουν την ενδοκυττάρια σύνθεση χοληστερόλης είτε ρητινών δέσμευσης χολικών οξέων που διακόπτουν τον εντεροηπατικό κύκλο των χολικών οξέων και αυξάνουν τη μετατροπή της χοληστερόλης σε χολικά οξέα) έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της δραστηριότητας των LDL υποδοχέων και του καταβολισμού των LDL και των καταλοίπων των VLDL.

Οι HDL παράγονται στο ήπαρ και το έντερο ή προέρχονται από τον καταβολισμό των πλούσιων σε TG λιποπρωτεϊνών και διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στο μηχανισμό της ανάστροφης μεταφοράς χοληστερόλης (reverse cholesterol transport, RCT)<sup>75</sup>. Σύμφωνα με αυτή τη θεώρηση, οι HDL δεσμεύουν την πλεονάζουσα χοληστερόλη των κυττάρων ή και των αθηρωματικών πλακών. Η μετακίνηση της χοληστερόλης από τα κύτταρα στις αρχέγονες HDL γίνεται διαμέσου των μεταφορέων ABCA1 που εκφράζονται στην επιφάνεια των κυττάρων και ανήκουν στην οικογένεια των ABC (ATP-binding cassette transporters). Η ελεύθερη χοληστερόλη στη συνέχεια εστεροποιείται με την επίδραση του ενζύμου ακυλοτρανσφεράση της χοληστερόλης (Lecithin-cholesterol acyltransferase, LCAT)<sup>76</sup>. Η εστεροποιημένη χοληστερόλη μεταφέρεται διαμέσου της πρωτεΐνης μεταφοράς εστεροποιημένης χοληστερόλης (Cholesteryl ester transfer protein



CETP) σε άλλες πλούσιες σε TG λιποπρωτεΐνες και διαμέσου αυτών, είτε στα ηπατοκύτταρα είτε στα περιφερικά κύτταρα για τη στεροειδογένεση<sup>77</sup>. Νεότερες μελέτες έδειξαν ότι οι υποδοχείς SR-B1 (scavenger receptor class B type I) διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στην άμεση μεταφορά εστέρων χοληστερόλης από τις HDL στα ηπατοκύτταρα<sup>78</sup>. Πρέπει να υπογραμμισθεί ότι η HL υδρολύει τα TG και τα φωσφολιπίδια των μεγάλων  $\alpha$  HDL με αποτέλεσμα τη δημιουργία των μικρότερων αρχέγονων pre- $\beta$  HDL που είναι εκείνα τα σωματίδια που προσλαμβάνουν τη χοληστερόλη από τις κυτταρικές μεμβράνες<sup>76,79</sup>.



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

### Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΛΟΙΜΩΞΕΩΝ ΣΤΑ TG ΚΑΙ ΤΑ VLDL ΣΩΜΑΤΙΔΙΑ

#### 2.1 ΓΕΝΙΚΑ

Η αντίδραση οξείας φάσης (acute-phase response, APR) είναι το σύνολο των τοπικών και συστηματικών αντιδράσεων του οργανισμού σε βλαπτικούς παράγοντες (πχ. λοίμωξη, τραυματισμός, κακοήθεια)<sup>80</sup>. Οι κυτταροκίνες, οι οποίες παράγονται από πολλά κύτταρα (πχ. μακροφάγα, μονοκύτταρα, T λεμφοκύτταρα, ενδοθηλιακά κύτταρα) ως απάντηση στην επίδραση βλαπτικών παραγόντων διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην εκδήλωση της APR. Η διαταραχή του μεταβολισμού των λιπιδίων και των λιποπρωτεϊνών είναι μια από τις πολλές και σημαντικές αλλαγές που προκαλεί η APR σε καταστάσεις λοίμωξης/φλεγμονής.

Η πιο πρώιμη διαταραχή των λιπιδίων κατά τη διάρκεια της APR είναι η αύξηση των TG του ορού που χαρακτηρίζεται από αύξηση των VLDL<sup>81</sup>. Παρόλο που οι μεταβολές στο μεταβολισμό της χοληστερόλης (**κεφάλαιο 3**) διαφέρουν ανάμεσα στα πρωτεύοντα θηλαστικά (που ανήκει ο άνθρωπος) και τα κατώτερα θηλαστικά (πχ. τα τρωκτικά), αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι τα αποτελέσματα της λοίμωξης/φλεγμονής στο μεταβολισμό των TG είναι παρόμοια σε όλα τα είδη.

Ασθενείς με ιογενείς λοιμώξεις και λοιμώξεις από Gram (-) ή Gram (+) βακτήρια έχουν αυξημένα TG στον ορό<sup>82-84</sup>. Πράγματι, οι LPS που είναι ουσιαστικό συστατικό του τοιχώματος των Gram (-) βακτηρίων και το λιποτεichoϊκό οξύ (lipoteichoic acid, LTA) που είναι συστατικό του τοιχώματος των Gram (+) βακτηρίων προκαλούν υπερτριγλυκεριδαιμία σε ζώα<sup>85-95</sup>.

Επιπρόσθετα, οι κυτταροκίνες αυξάνουν τα επίπεδα των TG του ορού σε ανθρώπους και σε τρωκτικά<sup>96-107</sup>. Πράγματι, ο TNF, η IL-1, η IL-2, η IL-6, ο LIF (leukemia inhibitory factor), ο CNTF (ciliary neurotropic factor), ο NGF (nerve growth factor), ο KGF (keratinocyte growth factor), ο PAF (platelet activating factor) και η (PTHrP) parathyroid hormone-related protein<sup>97,99,100,102-106,108-114</sup> αυξάνουν τα TG του ορού.

Μελέτες έδειξαν ότι οι LPS και οι κυτταροκίνες αυξάνουν άμεσα (σε 2 ώρες) τα επίπεδα των TG του ορού και η αύξηση αυτή διατηρείται για τουλάχιστον 24 ώρες<sup>93,94</sup>.

Η ίδια δόση LPS που προκαλεί υπερτριγλυκεριδαιμία, προκαλεί επίσης ανορεξία και μεταβολές στη σύνθεση των πρωτεϊνών οξείας φάσης, γεγονός που υποδηλώνει ότι η υπερτριγλυκεριδαιμία είναι μια εξαιρετικά ευαίσθητη εκδήλωση της απάντησης του ξενιστή στη λοίμωξη/φλεγμονή<sup>93</sup>.

Η δράση των κυτταροκινών στο μεταβολισμό των TG πιθανά είναι άμεση και δεν επιτυγχάνεται διαμέσου ορμονών, όπως η ινσουλίνη, η κορτιζόλη και οι κατεχολαμίνες. Πράγματι, ο TNF αυξάνει τα επίπεδα των TG σε διαβητικά ζώα με ένδεια ινσουλίνης και σε αρουραίους με εκτομή των επινεφριδίων<sup>115,116</sup>. Επιπλέον, ο TNF αυξάνει τα επίπεδα των TG του ορού κάτω από διάφορες διατροφικές συνθήκες πχ. είτε με τη χορήγηση σακχαρόζης, η οποία διεγείρει την ενδογενή σύνθεση λιπαρών οξέων, είτε με δίαιτα πλούσια σε λιπαρά, τα οποία καταστέλλουν την ενδογενή σύνθεση των λιπαρών οξέων<sup>117,118</sup>.

**Πίνακας 1. Επίδραση των LPS, του LTA και των κυτταροκινών στο μεταβολισμό των TG υγιών ζώων<sup>119</sup>**

	LPS	LTA	TNF	IL-1	IL-6	INF $\alpha$	INF $\gamma$
TG ορού	↑	↑	↑	↑	↑	↔	↔
Ηπατική σύνθεση λιπαρών οξέων	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↔
Έκκριση TG	↑	↑	↑	↑	↑	ND	ND
Λιπόλυση	↑	↑	↑	↔	↑	↑	↑
Οξειδωση λιπαρών οξέων	↑	ND	↓	↓	ND	ND	ND
Κετονοσώματα ορού	↓	ND	↓	↓	↔	↑ <sup>a</sup> ↔ <sup>b</sup>	↑
Κάθαρση TG	↑ <sup>a</sup> ↔ <sup>b</sup>	↔	↔	↔	↔	ND	ND
Ενεργότητα LPL	↓	↔	↓ ↔ <sup>c</sup>	↓	↓	↓	↓

IL: interleukin, LPL: lipoprotein lipase, LPS: lipopolysaccharides, LTA: lipoteichoic acid, TG: triglycerides, TNF: tumor necrosis factor

ND: δεν προσδιορίστηκε, a χαμηλές δόσεις, b υψηλές δόσεις, c σε ορισμένους αλλά όχι σε όλους τους ιστούς

*Η αύξηση των TG του ορού οφείλεται: α) στην αύξηση της παραγωγής και της έκκρισής τους με τις VLDL και β) στην ελάττωση της κάθαρσης των VLDL σωματιδίων.*

Τα υψηλά επίπεδα των TG του ορού στις λοιμώξεις οφείλονται κυρίως στην αυξημένη διαθεσιμότητα των ελεύθερων λιπαρών οξέων για εστεροποίηση με αποτέλεσμα το σχηματισμό TG που τελικά εκκρίνονται στην κυκλοφορία με τα VLDL σωματίδια. Πράγματι, στην καρδιά και τους σκελετικούς μύες κατά την

APR ο μεταβολισμός στρέφεται στην εξοικονόμηση γλυκόζης, ενώ η πρόσληψη και η οξειδωση των λιπαρών οξέων ελαττώνονται<sup>120</sup>. Έτσι, οι LPS, ο TNF και η IL-1 ελαττώνουν την έκφραση των πρωτεϊνών που μεταφέρουν και δεσμεύουν τα λιπαρά οξέα στην καρδιά και τους μύες<sup>121,122</sup> και με αυτό το μηχανισμό περισσότερα λιπαρά οξέα διατίθενται σε άλλους ιστούς, όπως το ήπαρ.

Οι μελέτες που έγιναν όσον αφορά την υπερτριγλυκεριδαμία στις λοιμώξεις και περιγράφονται αναλυτικά παρακάτω, επικεντρώνονται στους μηχανισμούς με τους οποίους οι παράγοντες φλεγμονής αυξάνουν τα διαθέσιμα ελεύθερα λιπαρά οξέα στο ήπαρ. Ακόμη και εάν τα στοιχεία στη βιβλιογραφία δεν είναι αρκετά, υπάρχουν αρκετές ενδείξεις ότι οι κυτταροκίνες δεν επηρεάζουν σημαντικά τα ένζυμα που συσχετίζονται με τη σύνθεση των TG από τα ελεύθερα λιπαρά οξέα. Πράγματι, μια μελέτη έδειξε ότι ο TNF δεν αυξάνει σημαντικά τις ενεργότητες των ενζύμων που συσχετίζονται με τη σύνθεση των TG από τα ελεύθερα λιπαρά οξέα (phosphatidate phosphohydrolase, glycerolphosphate acyltransferase, diacylglycerol acyltransferase)<sup>118</sup>. Πρέπει επίσης να υπογραμμισθεί ότι οι μηχανισμοί ελάττωσης της κάθαρσης των VLDL σωματιδίων συμμετέχουν σε μικρότερο βαθμό στην υπερτριγλυκεριδαμία των λοιμώξεων.

*Αξιοσημείωτο είναι ότι η επίδραση των LPS στα επίπεδα των TG είναι διφασική. Η αύξηση των VLDL σωματιδίων εξαιτίας της αύξησης της παραγωγής ή της ελάττωσης της κάθαρσης τους εξαρτάται από την ποσότητα των LPS<sup>93</sup>.*

Η έγχυση μικρής ποσότητας LPS προκαλεί αύξηση της παραγωγής των VLDL εξαιτίας: α) της αύξησης της ηπατικής σύνθεσης των λιπαρών οξέων, β) της ενεργοποίησης της λιπόλυσης στο λιπώδη ιστό και γ) της καταστολής της οξειδωσης των λιπαρών οξέων και της κετογένεσης. Όλοι αυτοί οι μηχανισμοί παρέχουν περισσότερα λιπαρά οξέα στο ήπαρ, όπου εστεροποιούνται, μετατρέπονται σε TG και εκκρίνονται με τις VLDL στην κυκλοφορία με τελικό αποτέλεσμα την υπερτριγλυκεριδαμία<sup>93</sup>.

Αντίθετα η έγχυση μεγαλύτερης ποσότητας LPS ελαττώνει την κάθαρση των VLDL σωματιδίων εξαιτίας: α) της μείωσης της ενεργότητας της LPL που είναι

υπεύθυνη για τον καταβολισμό των πλούσιων σε TG λιποπρωτεϊνών και β) της ελάττωσης των επιπέδων της apoE<sup>93</sup>.

### 2.1.1 Αύξηση της παραγωγής των VLDL

#### 2.1.1.1 Αύξηση της σύνθεσης των λιπαρών οξέων και των τριγλυκεριδίων (εικόνα 5)

Οι LPS και οι κυτταροκίνες (TNFα, IL-1, IL-6, IFNα, LIF, CNTF, NGF, PAF, PTHrP) προκαλούν ταχεία σύνθεση λιπαρών οξέων και αύξηση της ηπατικής σύνθεσης των TG σε τρωκτικά<sup>93,96,99,101,112,114,116,123,124</sup>.

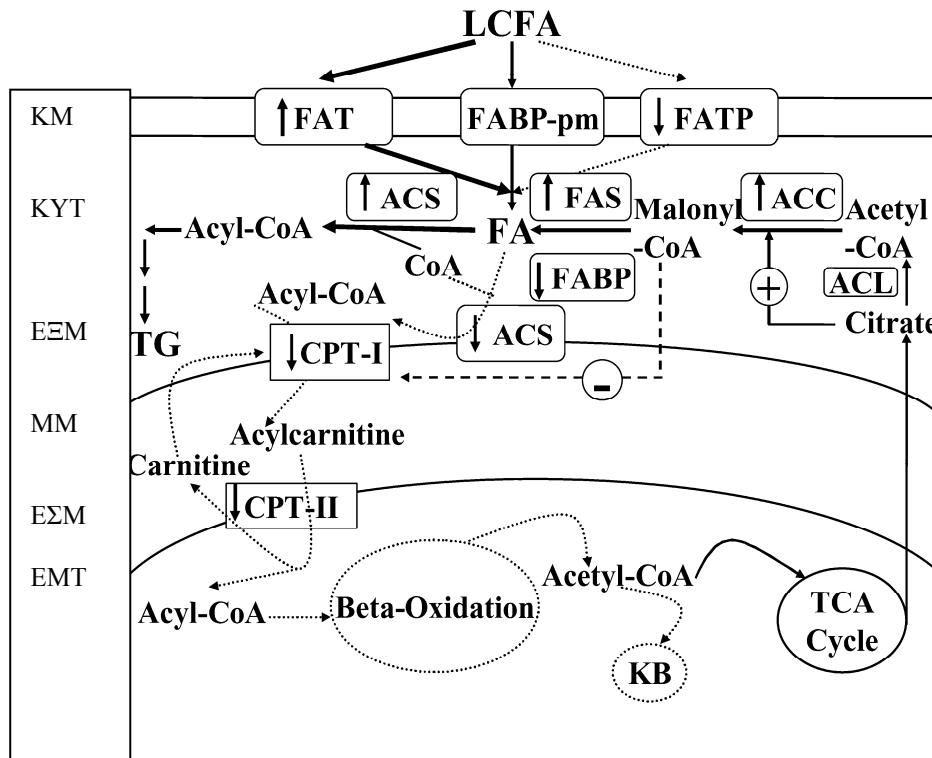
Ο TNF αυξάνει γρήγορα την ηπατική σύνθεση των λιπαρών οξέων (σε 1 ώρα από τη χορήγησή του) και η δράση του διαρκεί 17 ώρες<sup>96</sup>. Ο χρόνος που απαιτείται για την εμφάνιση υπερτριγλυκεριδαιμίας από τον TNF είναι ο ίδιος με το χρόνο που απαιτείται για τη διέγερση της σύνθεσης των λιπαρών οξέων και την έκκριση των VLDL<sup>96,123</sup>. Ο TNF δεν επηρεάζει άμεσα την ενεργότητα των ενζύμων που συμμετέχουν στη σύνθεση των λιπαρών οξέων στο ήπαρ<sup>125</sup>, αλλά επάγει τη σύνθεση των λιπαρών οξέων, επειδή αυξάνει τις συγκεντρώσεις του κιτρικού, ενός αλλοστερικού ενεργοποιητή της ακετυλ CoA καρβοξυλάσης ACC (acetyl-CoA carboxylase, ACC)<sup>125</sup> (εικόνα 5).

Επιπλέον, η IL-1 και η IL-6 επάγουν την ηπατική σύνθεση των λιπαρών οξέων με τον ίδιο μηχανισμό, δηλαδή διαμέσου της αύξησης των επιπέδων του κιτρικού στο ήπαρ, ενώ η IFNα η οποία επίσης αυξάνει τη σύνθεση των λιπαρών οξέων, δεν έχει επίδραση στα επίπεδα του κιτρικού και πιθανά επιδρά με κάποιο άλλο μηχανισμό<sup>124</sup>.

Ο TNF με την IFNα, καθώς και η IL-1 με την IFNα επιδρούν αθροιστικά ή συνεργικά στην ηπατική σύνθεση των λιπαρών οξέων, ενώ δεν παρατηρήθηκε συνεργική ή αθροιστική επίδραση στην ηπατική σύνθεση των λιπαρών οξέων του TNF με την IL-1 ή του TNF με την IL-6<sup>124</sup>.

Αντίθετα, η IL-4 μια κυτταροκίνη με αντιφλεγμονώδη δράση αναστέλλει τη διεγερτική επίδραση του TNF, της IL-1 και της IL-6 στην ηπατική σύνθεση των λιπαρών οξέων και ελαττώνει τα επίπεδα του κιτρικού στο ήπαρ<sup>126</sup>. Ωστόσο, η IL-4 δεν αναστέλλει την επίδραση της IFNα στην ηπατική σύνθεση των λιπαρών οξέων<sup>126</sup>.

Έτσι, υπάρχουν περίπλοκες αλληλεπιδράσεις μεταξύ των κυτταροκινών όσον αφορά τη σύνθεση των λιπαρών οξέων στο ήπαρ, οι οποίες είναι επιπρόσθετες, συνεργικές ή και ανταγωνιστικές.



### Εικόνα 5. Μεταβολές στον ηπατικό μεταβολισμό των λιπαρών οξέων κατά τη διάρκεια της APR (acute-phase response)

Η CD36/FAT μεταφέρει λιπαρά οξέα με μακρές αλυσίδες στο κυτταρόπλασμα για εστεροποίηση και η δράση της ενισχύεται κατά τη διάρκεια της APR. Αντίθετα, η FATP μεταφέρει τα λιπαρά οξέα στα μιτοχόνδρια για οξειδωση και η δράση της καταστέλλεται κατά την APR. Οι κυτταροκίνες (πχ TNF, IL-1) επάγουν την ηπατική σύνθεση των λιπαρών οξέων, επειδή αυξάνουν τα επίπεδα του κιτρικού στο ήπαρ. Επιπλέον, οι παράγοντες φλεγμονής αυξάνουν τα επίπεδα της ACC και της FAS και μειώνουν την έκφραση της CPT-I και της CPT-II. Επιπρόσθετα, οι LPS και οι κυτταροκίνες αυξάνουν τα επίπεδα του ηπατικού malonyl-CoA, το οποίο καταστέλλει την CPT-I που διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην οξειδωση των λιπαρών οξέων. Έτσι, η λοίμωξη προκαλεί μείωση της οξειδωσης των λιπιδίων και καταστολή της παραγωγής των κετονοσωμάτων στο ήπαρ.

KM: κυτταροπλασματική μεμβράνη, KYT: κυτταρόπλασμα, ΕΞΜ: εξωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη, MM: μιτοχονδριακή μεμβράνη, ΕΣΜ: εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη, ΕΜΤ: εσωτερικού μιτοχονδρίου

ACS: acyl-CoA synthetase, LCFA: long chain FA, FAT: fatty acid translocase, FABP: fatty acid binding protein, FATP: fatty acid transport protein, ACS: acyl-CoA synthetase, FAS: fatty acid synthase, ACC: acetyl-CoA carboxylase, FABP: fatty acid binding protein, ACL: ATP-citrate lyase, CPT: carnitine palmitoyl transferase, KB: ketone body, TCA: tricarboxylic cycles, TG: triglycerides, TNF: tumor necrosis factor, IL-1: Interleukin-1

### 2.1.1.2 Αύξηση της λιπόλυσης στο λιπώδη ιστό

Η λιπόλυση προσφέρει στο ήπαρ αυξημένη ποσότητα λιπαρών οξέων για το σχηματισμό των TG. Πράγματι, τα λιπαρά οξέα μεταφέρονται στο ήπαρ, όπου επαναεστεροποιούνται, μετατρέπονται σε TG και εκκρίνονται στην κυκλοφορία ως VLDL.

Οι LPS, το LTA και πολλές κυτταροκίνες επάγουν τη λιπόλυση σε υγιή ζώα και σε λιποκύτταρα<sup>93,95,101,104,108,111,118,127-131</sup>. Ο TNF προκαλεί άμεσα λιπόλυση σε πειραματόζωα<sup>118</sup>. Η IL-1 δεν διεγείρει τη λιπόλυση και η επίδρασή της στα επίπεδα των TG του ορού οφείλεται κυρίως στην αύξηση της σύνθεσης των λιπαρών οξέων και την αύξηση της έκκρισης των TG<sup>99</sup>. Η IL-6, ο LIF και ο CNTF που δρουν διαμέσου του ίδιου υποδοχέα (gp130) αυξάνουν τόσο την ηπατική σύνθεση των λιπαρών οξέων όσο και τη λιπόλυση<sup>101,111</sup>. Από την άλλη πλευρά, ο KGF διεγείρει τη λιπόλυση, αλλά δεν έχει επίδραση στην ηπατική σύνθεση των λιπαρών οξέων<sup>108</sup>. Τέλος, η INFα και η INFγ επάγουν τη λιπόλυση, αλλά τα λιπαρά οξέα που ελευθερώνονται με την επίδρασή τους δεν συνεισφέρουν στη σύνθεση των TG στο ήπαρ, διότι είναι οξειδωμένα και οδηγούν στο σχηματισμό κετονοσωμάτων<sup>132</sup>.

Η λιπόλυση οφείλεται κυρίως στην ορμόνη που είναι ευαίσθητη στη λιπάση (hormone-sensitive lipase, HSL), η οποία ενεργοποιείται είτε με την αλλαγή της κατάστασης φωσφορυλίωσης της, είτε με την επαγωγή της έκφρασης των γονιδίων της. Πολλές κυτταροκίνες που επάγουν τη λιπόλυση, όπως ο TNF, η IFNα και η IFNγ ελαττώνουν σημαντικά τα επίπεδα του mRNA της HSL<sup>133</sup>, γεγονός που υποδηλώνει ότι η ρύθμιση του γονιδίου της HSL δεν διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη λιπόλυση διαμέσου των κυτταροκινών.

Ωστόσο, η λιπόλυση στις λοιμώξεις πιθανά πραγματοποιείται διαμέσου της φωσφορυλίωσης της HSL ή πρωτεϊνών που έχουν στενή σχέση με την HSL. Η λιπόλυση σε καλλιέργειες λιποκυττάρων με την επίδραση του TNF συσχετίζεται με την ενεργοποίηση της πρωτεϊνικής κινάσης που ενεργοποιείται από μιτογόνα (mitogen-activated protein kinase kinase, MEK) και της κινάσης που συσχετίζεται με εξωκυττάριο σήμα, (extracellular signal-related kinase, ERK)<sup>134</sup>. Οι κινάσες MEK και ERK ελαττώνουν την κυκλική νουκλεοτιδική φωσφοδιεστεράση 3B, ένα ένζυμο που υδρολύει την κυκλική μονοφωσφορική αδενοσίνη (cyclic adenosine monophosphate, cAMP). Η αύξηση του ενδοκυττάρου cAMP ενεργοποιεί την εξαρτώμενη από το cAMP



πρωτεϊνική κινάση A (protein kinase A, PKA), η οποία φωσφορυλιώνει περιλιπίνες (perilipins) και φωσφοπρωτεΐνες που βρίσκονται στην επιφάνεια των λιποσταγονιδίων στα λιποκύτταρα. Η φωσφορυλίωση των περιλιπινών A και B τροποποιεί την επιφάνεια των λιπιδίων και διευκολύνει την πρόσβαση των λιπασών στα λιποσταγονίδια και τη λιπόλυση. Η ενεργοποίηση του συστήματος MEK/ERK και του PKA έχει επίσης ως αποτέλεσμα τη φωσφορυλίωση της HSL και την αύξηση της λιπολυτικής της δραστηριότητας<sup>134,135</sup>.

Επιπλέον, οι LPS και οι κυτταροκίνες επάγουν τη λιπόλυση επειδή ελαττώνουν τα επίπεδα του mRNA και την ενεργότητα της acyl-CoA synthetase (ACS) στο λιπώδη ιστό<sup>133,136</sup>. Η ACS καταλύει την ενεργοποίηση των μακρών αλυσίδων των λιπαρών οξέων σε acyl-CoA εστέρες. Η μεταφορά των λιπαρών οξέων διαμέσου των βιολογικών μεμβρανών είναι αμφίδρομη. Ωστόσο, όταν τα λιπαρά οξέα μετατρέπονται σε acyl-CoA εστέρες εξέρχονται με δυσκολία από τα κύτταρα. Έτσι, η καταστολή της ACS ευνοεί την έξοδο των λιπαρών οξέων από τα λιποκύτταρα.

Ακόμη, η ικανότητα των λιποκυττάρων να αποθηκεύουν λιπαρά οξέα μειώνεται, επειδή οι κυτταροκίνες μειώνουν τα επίπεδα του mRNA των πρωτεϊνών μεταφοράς των λιπαρών οξέων (fatty acid transport proteins, FATPs)<sup>121</sup> στα λιποκύτταρα.

### **2.1.1.3 Ελάττωση της ηπατικής οξειδωσης των λιπαρών οξέων και καταστολή της κετογένεσης (εικόνα 5)**

*Οι βακτηριακές λοιμώξεις καταστέλλουν την οξειδωση των λιπαρών οξέων στο ήπαρ<sup>137,138</sup>. Έτσι, τα λιπαρά οξέα που προέρχονται από τοπική παραγωγή στα ηπατοκύτταρα και τη λιπόλυση κατευθύνονται στην οδό της εστεροποίησης (και της παραγωγής TG) αντί της οξειδωσης.*

Οι LPS, ο TNF και η IL-1 ελαττώνουν την ενεργότητα της ACS στα μιτοχόνδρια και αυξάνουν την ενεργότητα της ACS στα μικροσωμάτια των ηπατοκυττάρων<sup>136</sup>. Η μείωση της μιτοχονδριακής ACS εμποδίζει την είσοδο των λιπαρών οξέων στα μιτοχόνδρια για οξειδωση, ενώ η αύξηση της ACS στα μικροσωμάτια επάγει την εστεροποίηση των λιπαρών οξέων και τη σύνθεση των TG.

Οι LPS και οι κυτταροκίνες ρυθμίζουν με διαφορετικό τρόπο την έκφραση του ηπατικού mRNA των μεταφορέων, οι οποίοι προσλαμβάνουν τα λιπαρά οξέα

που προέρχονται από την περιφέρεια. Οι LPS και οι κυτταροκίνες αυξάνουν την έκφραση της CD36/FAT (fatty acid translocase) και ελαττώνουν τα επίπεδα του mRNA της FATP (fatty acid transport protein) στο ήπαρ. Έτσι, αυτές οι μεταβολές στους μεταφορείς τροποποιούν τη μετακίνηση των λιπαρών οξέων και κατευθύνουν τα λιπαρά οξέα σε διαφορετικές ενδοκυττάρια θέσεις<sup>121</sup>. Συγκεκριμένα, η CD36/FAT διευκολύνει τη μεταφορά των λιπαρών οξέων ενδοκυττάρια για επανεστεροποίηση και η δράση της ενισχύεται κατά τη διάρκεια της λοίμωξης. Αντίθετα, η FATP μεταφέρει τα λιπαρά οξέα προς τα μιτοχόνδρια για οξειδωση και η δράση της καταστέλλεται κατά την ARP (**εικόνα 5**).

Επιπρόσθετα, οι LPS ελαττώνουν το mRNA και τα επίπεδα της FABP (fatty acid binding protein) στο ήπαρ, την καρδιά, και τους μύες<sup>122</sup>. Επειδή οι FABPs διευκολύνουν τη μετακίνηση των λιπαρών οξέων μέσα στα κύτταρα, η μείωση των FABPs συνεισφέρει στην ελάττωση της οξειδωσης των λιπαρών οξέων κατά τη ARP.

Η ACS των μιτοχονδρίων μετατρέπει τα λιπαρά οξέα σε acyl-CoA. Η CPT (carnitine palmitoyl transferase)-I και η CPT-II διευκολύνουν την είσοδο του acyl-CoA στα μιτοχόνδρια, ώστε να υποβληθεί σε β-οξειδωση. Σε σηψαιμία, η ηπατική έκφραση των CPT-I και CPT-II ελαττώνεται<sup>139,140</sup>. Επιπλέον, οι LPS, η IL-1 και ο TNF αυξάνουν τα επίπεδα του ηπατικού malonyl-CoA, ο οποίος είναι ένας αλλοστερικός αναστολέας της CPT-I<sup>141</sup>. Αντίθετα, η IFNα σε υψηλές δόσεις αυξάνει τα επίπεδα του malonyl-CoA<sup>132</sup>, ενώ η IFNγ δεν επηρεάζει τα ηπατικά επίπεδα του malonyl-CoA<sup>132</sup>.

*Τα επίπεδα των κετονοσωμάτων εξαρτώνται από το ρυθμό της σύνθεσης τους στο ήπαρ και της κατανάλωσής τους στους περιφερικούς ιστούς. Στις λοιμώξεις εξαιτίας της καταστολής της οξειδωσης των λιπαρών οξέων ελαττώνεται η ηπατική παραγωγή των κετονοσωμάτων<sup>137,138</sup>. Επιπλέον, η λοίμωξη μειώνει τα επίπεδα των κετονοσωμάτων, αφού αυξάνεται η περιφερική κατανάλωσή τους.*

Οι κυτταροκίνες επιδρούν διαφορετικά στο μεταβολισμό των κετονοσωμάτων (**πίνακας 1**). Ο TNF και η IL-1 μειώνουν σημαντικά τα επίπεδα των κετονοσωμάτων σε ποντίκια<sup>97,141</sup>. Η IL-1 αυξάνει τα επίπεδα του malonyl-CoA, αναστέλλει την δράση της CPT-I και καταστέλλει την παραγωγή των κετονοσωμάτων. Επιπρόσθετα, σε νηστικά ποντίκια η IL-1 αναστέλλει τη

λιπόλυση και ελαττώνει τα επίπεδα των λιπαρών οξέων που είναι το υπόστρωμα για τη σύνθεση των κετονοσωμάτων<sup>141</sup>. Αντίθετα, η IL-6 δεν έχει επίδραση στα επίπεδα των κετονοσωμάτων του ορού<sup>101</sup>. Η INFα έχει διφασικά αποτελέσματα: οι χαμηλές δόσεις INFα αυξάνουν τα επίπεδα των κετονοσωμάτων του ορού, ενώ οι υψηλότερες δόσεις δεν έχουν καμιά επίδραση<sup>132</sup>. Η INFγ διεγείρει τη λιπόλυση στο λιπώδη ιστό και αυξάνει την παραγωγή των κετονοσωμάτων στο ήπαρ<sup>93</sup>.

### 2.1.2 Ελάττωση της κάθαρσης των VLDL

*Υπάρχουν λίγες ενδείξεις ότι η αύξηση των TG που οφείλεται στην επίδραση των κυτταροκινών οφείλεται στη μειωμένη ενεργότητα της LPL in vivo.* - Πρόσφατες μελέτες in vitro έδειξαν ότι ο TNF μειώνει την ενεργότητα της LPL σε καλλιέργειες λιποκυττάρων<sup>142,143</sup>. Επιπρόσθετα, η IL-1, η IL-6, ο LIF και ο TNF μειώνουν την ενεργότητα της LPL in vivo σε λιπώδη ιστό ποντικών μετά από πολλές ώρες από την έγχυσή τους<sup>144</sup>. Ωστόσο, ενώ οι κυτταροκίνες (πχ. ο TNF<sup>144,145</sup>) ελαττώνουν την ενεργότητα της LPL μετά από αρκετές ώρες από την έγχυσή τους, η αύξηση των TG είναι άμεση<sup>96</sup>.

- Τα αντισώματα που εξουδετερώνουν τον TNF αναστέλλουν την αύξηση των TG εξαιτίας των LPS σε ποντίκια. Αυτό το εύρημα είναι μια επιπλέον ένδειξη ότι οι LPS αυξάνουν τα TG ανεξάρτητα από την επίδρασή τους στην LPL<sup>100</sup>.

- Άλλες μελέτες έδειξαν επίσης ότι ο TNF δεν ελαττώνει την κάθαρση των χυλομικρών και των VLDL σωματιδίων από την κυκλοφορία<sup>109,115,146</sup>.

- Ακόμη, παρόλο που η INFα και η INFγ ελαττώνουν την ενεργότητα της LPL σε καλλιέργειες λιποκυττάρων<sup>133,143</sup> και αυξάνουν τα TG σε ανθρώπους<sup>105,106</sup> δεν έχουν επίδραση στα επίπεδα των TG στα τρωκτικά. Αυτή είναι ακόμη μια παρατήρηση που δείχνει ότι η αύξηση των TG πιθανά δεν συσχετίζεται με τις μεταβολές της LPL.

- Σε αρουραίους η χορήγηση χαμηλών δόσεων LPS επάγει την ηπατική έκκριση των VLDL στον ορό και αυξάνει τα επίπεδα των TG χωρίς να επιδρά στην κάθαρση των TG. Αντίθετα, οι υψηλές δόσεις LPS αναστέλλουν την κάθαρση των πλούσιων σε TG λιποπρωτεϊνών και ελαττώνουν την ενεργότητα της LPL στο πλάσμα, στο λιπώδη ιστό και τους μύες<sup>93</sup>.

*Πράγματι, η επίδραση των κυτταροκινών στην κάθαρση των VLDL σωματιδίων είναι ασαφής και πιθανά η επίδραση των LPS γίνεται διαμέσου άλλων μηχανισμών.*

- Η επίδραση της λοίμωξης στην apoE είναι αμφιλεγόμενη (μείωση της παραγωγή ή της κάθαρσης, **κεφάλαιο 5**) Σε περίπτωση μείωσης των επιπέδων της apoE, τα σωματίδια VLDL έχουν λιγότερη apoE κατά τη διάρκεια της λοίμωξης<sup>147-149</sup>. Επειδή η apoE είναι απαραίτητη για την απομάκρυνση των πλούσιων σε TG λιποπρωτεϊνών, η ελάττωση των επιπέδων της apoE επιβραδύνει την κάθαρση αυτών των σωματιδίων<sup>147</sup>.
- Οι VLDL που εκκρίνονται από το ήπαρ μετά τη χορήγηση των LPS είναι πλούσιες σε σφιγγολιπίδια<sup>150</sup>. Επειδή ο εμπλουτισμός με σφιγγολιπίδια ελαττώνει την κάθαρση των πλούσιων σε TG λιποπρωτεϊνών<sup>151</sup>, η αύξηση των σφιγγολιπιδίων των VLDL κατά τη διάρκεια της λοίμωξης/φλεγμονής έχει ως αποτέλεσμα τη συσσώρευση των VLDL σωματιδίων.

### **2.1.3 Ο ρόλος των VLDL σε οξείες λοιμώξεις**

Ο μεταβολισμός των VLDL και οι μηχανισμοί που προκαλούν αύξηση των VLDL σωματιδίων και υπερτριγλυκεριδαιμία στις λοιμώξεις περιγράφηκε αναλυτικά παραπάνω (**κεφάλαιο 2**). Επιπρόσθετα, πολλές μελέτες έδειξαν ότι οι λιποπρωτεΐνες που είναι πλούσιες σε TG είναι αθηρογόνες<sup>152-154</sup>. Πράγματι, οι VLDL από τον ορό ασθενών με υπερτριγλυκεριδαιμία είναι τοξικές για τα ενδοθηλιακά κύτταρα<sup>155</sup>, επειδή αλληλεπιδρούν με τους LDL υποδοχείς και τους υποδοχείς των apoB48 στα μονοκύτταρα–μακροφάγα και αυξάνουν την πρόσληψη των λιπιδίων και το σχηματισμό αφρωδών κυττάρων<sup>155</sup>.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

### Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΛΟΙΜΩΞΕΩΝ ΣΤΗ ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ ΚΑΙ ΤΑ LDL ΣΩΜΑΤΙΔΙΑ

#### 3.1 Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΛΟΙΜΩΞΕΩΝ ΣΤΗ ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ

Οι LPS και οι κυτταροκίνες ελαττώνουν τα επίπεδα της ολικής χοληστερόλης στα πρωτεύοντα θηλαστικά. Αντίθετα, στα τρωκτικά οι παράγοντες φλεγμονής αυξάνουν τα επίπεδα της ολικής χοληστερόλης επειδή αυξάνουν τη σύνθεση της χοληστερόλης και επιβραδύνουν τη μετατροπή της χοληστερόλης σε χολικά οξέα. Οι υπεύθυνοι μηχανισμοί για τις διαφορές αυτές στα διαφορετικά είδη δεν έχουν αποσαφηνισθεί.

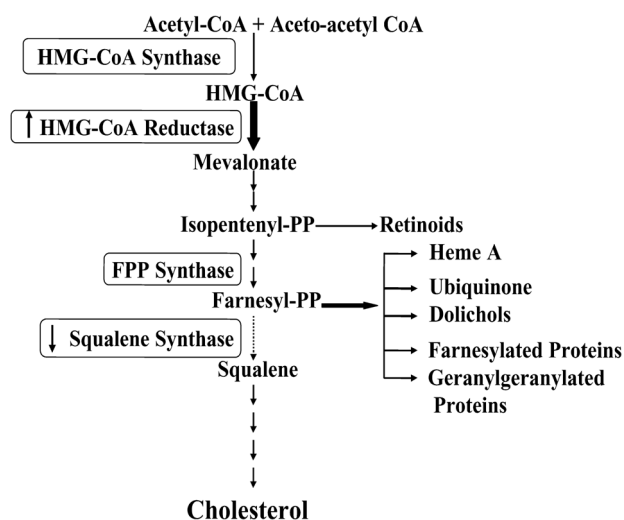
##### 3.1.1 Μεταβολές στη σύνθεση της χοληστερόλης στο ήπαρ

###### 3.1.1.1 Μεταβολές στη σύνθεση της χοληστερόλης στο ήπαρ σε τρωκτικά

Στα τρωκτικά οι LPS διεγείρουν την ηπατική σύνθεση της χοληστερόλης (**εικόνα 6**). Σε αντίθεση με την άμεση επίδραση των LPS στη σύνθεση των λιπαρών οξέων, η επίδραση των LPS στην ηπατική σύνθεση της χοληστερόλης είναι καθυστερημένη και εμφανίζεται 16 ώρες μετά τη χορήγηση των LPS<sup>94</sup>. Οι LPS επάγουν τη σύνθεση της ηπατικής χοληστερόλης, αφού αυξάνουν την έκφραση της mRNA, τη μάζα και την ενεργότητα της HMG-CoA (3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A) αναγωγάσης (ένζυμο που συμμετέχει στη βιοσύνθεση της χοληστερόλης στο ήπαρ)<sup>94,156</sup>. Οι LPS επάγουν την έκφραση της HMG-CoA αναγωγάσης ακόμη και όταν η βασική της έκφραση είναι αυξημένη (με τη χορήγηση χολικών οξέων) ή ελαττωμένη (με δίαιτα πλούσια σε χοληστερόλη)<sup>156</sup>. Έτσι, οι LPS αυξάνουν την HMG-CoA αναγωγάση, ανεξάρτητα από την πρόσληψη λιπαρών τροφών. Παρά τη σημαντική αύξηση της HMG-CoA αναγωγάσης, οι LPS προκαλούν μικρή αύξηση της παραγωγής της ηπατικής χοληστερόλης και των επιπέδων της χοληστερόλης του ορού<sup>94</sup>. Μια εξήγηση για αυτή την παρατήρηση είναι ότι οι LPS ελαττώνουν την έκφραση του mRNA και την ενεργότητα της συνθάσης του σκουαλενίου. Η ρύθμιση της συνθάσης του σκουαλενίου διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση του μεταβολισμού

του μεβαλονικού προς την οδό των στερολών ή προς το μεταβολικό δρόμο της παραγωγής μη στερολών (**εικόνα 6**).

Οι LPS αυξάνουν την HMG-CoA αναγωγή και ελαττώνουν τη συνθάση του σκουαλενίου και τελικά στρέφουν το μεταβολισμό του μεβαλονικού προς την οδό παραγωγής μη στερολών ουσιών. Πράγματι, η φλεγμονή προκαλεί αύξηση των dolichols<sup>157,158</sup>, ουσιών που είναι απαραίτητες για τη γλυκοζυλίωση των πρωτεϊνών και τη σύνθεση των γλυκοζυλιωμένων πρωτεϊνών του πλάσματος που αυξάνονται κατά τη διάρκεια της φλεγμονής. Παρόμοια με τις LPS πολλές κυτταροκίνες (TNF, IL-1, IL-6, KGF, NGF) προκαλούν καθυστερημένη αύξηση της χοληστερόλης στα τρωκτικά<sup>96,99,101,108</sup>, αφού αυξάνουν την ενεργότητα και την έκφραση του mRNA της HMG-CoA αναγωγής<sup>156,159</sup>, ελαττώνουν την ενεργότητα και την έκφραση του mRNA της συνθάσης του σκουαλενίου<sup>160</sup> και τελικά εκτρέπουν το μεταβολισμό του μεβαλονικού προς την οδό των μη στερολών ουσιών.



**Εικόνα 6. Μεταβολές στο μεταβολισμό της χοληστερόλης κατά τη διάρκεια της APR (acute-phase response) σε τρωκτικά**

Η λοίμωξη/φλεγμονή αυξάνει την HMG-CoA αναγωγή, η οποία είναι ουσιαστικό ένζυμο για τη βιοσύνθεση της χοληστερόλης στο ήπαρ. Επιπλέον, ένζυμα που συμμετέχουν στο μεταβολισμό του μεβαλονικού, όπως η συνθάση του σκουαλενίου μειώνονται σημαντικά. Έτσι, η ηπατική σύνθεση της χοληστερόλης αυξάνεται και ο μεταβολισμός του μεβαλονικού στρέφεται προς την οδό παραγωγής μη στερολών.

### 3.1.1.2 Μεταβολές στη σύνθεση της χοληστερόλης στο ήπαρ στον άνθρωπο

Πολλές μελέτες έγιναν τα τελευταία χρόνια όσον αφορά την επίδραση της λοίμωξης/φλεγμονής στα επίπεδα της TC, της HDL-C και της LDL-C.

Πράγματι, σε ασθενείς με λοιμώξεις (ιογενείς ή βακτηριακές)<sup>84</sup>, σηψαιμία<sup>161-165</sup>, ελονοσία<sup>166</sup>, HIV λοίμωξη<sup>83</sup>, περιοδοντίτιδα<sup>167</sup>, καθώς και σε παιδιά με βακτηριακή φαρυγγίτιδα<sup>168</sup>, με μηνιγγιτιδοκοκκική σηψαιμία<sup>169</sup>, σε ασθενείς που νοσηλεύονται σε σοβαρή κατάσταση<sup>170,171</sup> και σε εμπύρετους ουδετεροπενικούς ασθενείς<sup>172</sup> βρέθηκαν χαμηλά επίπεδα χοληστερόλης (TC, HDL-C, LDL-C) του ορού. Επιπρόσθετα, σε πολλές από αυτές τις μελέτες βρέθηκε ότι υπάρχει συσχέτιση μεταξύ των παραγόντων που ευοδώνουν τη φλεγμονή με τα χαμηλά επίπεδα της χοληστερόλης.

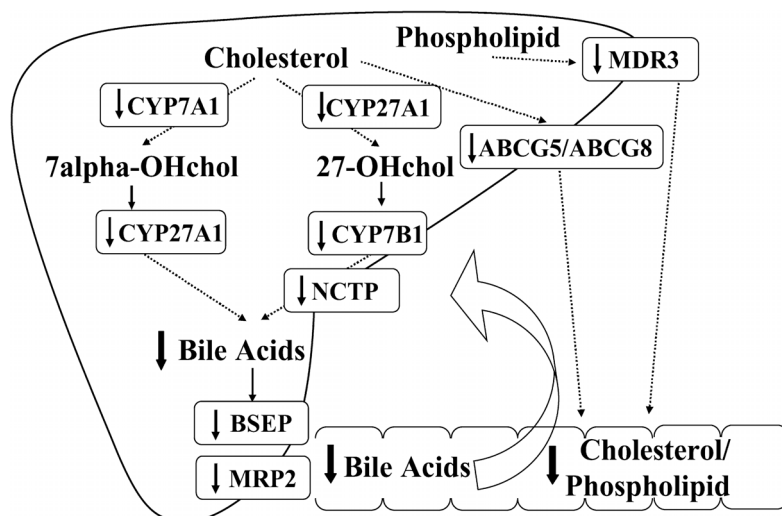
Στον άνθρωπο σε λοίμωξη/φλεγμονή τα επίπεδα της χοληστερόλης του ορού είναι χαμηλά επειδή μειώνεται ο αριθμός των LDL και των HDL σωματιδίων και επιπρόσθετα επειδή ελαττώνονται τα επίπεδα της χοληστερόλης που περιέχουν οι LDL και οι HDL<sup>83,84,91,92</sup>.

Η χορήγηση ανασυνδυασμένων κυτταροκινών για τη θεραπεία ασθενών με νεοπλάσματα<sup>102,103,110,173,174</sup> και απλαστική αναιμία<sup>175</sup>, για πειραματικούς σκοπούς σε πρωτεύοντα θηλαστικά<sup>91,92,176</sup>, καθώς και η χορήγηση ενδοτοξίνης σε υγιείς εθελοντές<sup>177</sup> είχε ως αποτέλεσμα σημαντική μείωση των επιπέδων της χοληστερόλης του ορού. Πράγματι, αυτές οι μελέτες έδειξαν ότι οι LPS και οι κυτταροκίνες [TNF, IL-2, IFN $\beta$ , Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF), Macrophage colony-stimulating factor (M-CSF)] ελαττώνουν τα επίπεδα της χοληστερόλης του ορού. Αντίθετα, σε μια μελέτη η IL-1 σε σύγκριση με τον TNF δεν προκάλεσε σημαντικές μεταβολές στα επίπεδα της χοληστερόλης<sup>178</sup>. Ωστόσο, οι μηχανισμοί με τους οποίους η λοίμωξη/φλεγμονή ελαττώνει τη σύνθεση της χοληστερόλης στα πρωτεύοντα θηλαστικά δεν έχουν αποσαφηνισθεί.

### **3.1.2 Επίδραση των λοιμώξεων στον καταβολισμό και την αποβολή της χοληστερόλης**

#### **3.1.2.1 Ο καταβολισμός της χοληστερόλης – γενικά**

Με τη συμμετοχή πολλών ενζύμων τα ηπατοκύτταρα εκκρίνουν χολικά άλατα, φωσφολιπίδια, χοληστερόλη, οργανικά ανιόντα και κατιόντα στη χολή. Η χοληστερόλη που επιστρέφει στο ήπαρ μετατρέπεται σε χολικά οξέα. Τα χολικά οξέα είναι το κύριο μεταβολικό προϊόν με το οποίο η χοληστερόλη απομακρύνεται από τον οργανισμό. Υπάρχουν 2 οδοί σύνθεσης των χολικών οξέων<sup>179,180</sup>.



**Εικόνα 7. Μεταβολές στο μεταβολισμό των χολικών οξέων κατά τη διάρκεια της APR (acute-phase response)**

Οι LPS και οι κυτταροκίνες ελαττώνουν τον καταβολισμό και την απέκκριση της χοληστερόλης από το ήπαρ και μειώνουν την έκφραση και τις ενεργότητες των ενζύμων της κλασικής και της εναλλακτικής οδού της σύνθεσης των χολικών οξέων: CYP7A1, CYP27A1, CYP7B1 και CYP8B1.

Επιπλέον, οι LPS ελαττώνουν την έκφραση των πρωτεϊνών που συμμετέχουν στην ηπατοκυτταρική πρόσληψη των χολικών αλάτων (NTCP, OATPs) και την απέκκριση των χολικών αλάτων (BSEP, MRP2). Ακόμη, οι LPS καταστέλλουν τη δραστηριότητα του ABCG5/ABCG8 και του MDR3 και ελαττώνουν την απέκκριση της χοληστερόλης και των φωσφολιπιδίων αντίστοιχα.

CYP7A1: cholesterol 7 $\alpha$ -hydroxylase, CYP27A1: sterol 27-hydroxylase, CYP7B1: oxysterol 7 $\alpha$  hydroxylase, CYP8B1: sterol 12 $\alpha$ -hydroxylase, BSEP: bile salt export pump, MRP2: multidrug resistance-associated protein-2, NTCP: basolateral Na<sup>+</sup>/cotransporter taurocholate, OATP: organic anion-transporting proteins, MDR3: multidrug resistance-3

*Η κλασική ή ουδέτερη οδός [ουσιαστικό ένζυμο το CYP7A1 (cholesterol 7 $\alpha$ -hydroxylase) στα μικροσωμάτια των ηπατοκυττάρων].*

*Η εναλλακτική ή όξινη οδός [κύρια ένζυμα το CYP27A1 (sterol 27-hydroxylase) των μιτοχονδρίων των ηπατοκυττάρων και το CYP7B1 (oxysterol 7 $\alpha$ -hydroxylase)].*

Τελικά παράγονται πρωτογενή χολικά οξέα. Το εναλλακτικό μονοπάτι συνεισφέρει κατά 50% στη συνολική παραγωγή των χολικών οξέων<sup>179,180</sup>. Τα πρωτογενή χολικά οξέα στα ηπατοκύτταρα είναι συζευγμένα με την ταυρίνη και τη γλυκίνη με τη μορφή ανιονικών αλάτων και ονομάζονται χολικά άλατα.



Τα ηπατοκύτταρα προσλαμβάνουν τα χολικά άλατα από την πυλαία κυκλοφορία διαμέσου του συστήματος μεταφοράς NTCP (basolateral Na<sup>+</sup>/cotransporter taurocholate) και των οργανικών ανιόντων που μεταφέρουν πρωτεΐνες (Organic Anion Transporting Polypeptide, OATP).

Η έκκριση των χολικών αλάτων από τα ηπατοκύτταρα γίνεται με διαμεμβρανικές πρωτεΐνες μεταφοράς [ATP-binding cassette transporters (ABC-transporter)]. Η αντλία έκκρισης BSEP (bile salt export pump) εκκρίνει μονοθενή χολικά άλατα, ενώ η αντλία MDR2 (Multidrug resistance-2) εκκρίνει δισθενή χολικά άλατα. Ο MDR3 σε ανθρώπους και ο MDR2 σε τρωκτικά είναι μεταφορείς φωσφολιπιδίων. Η έκκριση της χοληστερόλης που προσλαμβάνουν τα ηπατοκύτταρα γίνεται διαμέσου των ABCG5 και ABCG8 μεταφορέων<sup>181,182</sup>.

### **3.1.2.2 Οι LPS και οι κυτταροκίνες παρεμποδίζουν τον καταβολισμό και την αποβολή της χοληστερόλης (εικόνα 7)**

Στο ήπαρ οι LPS μειώνουν σημαντικά την έκφραση του mRNA και την ενεργότητα του CYP7A1, που διαδραματίζει ουσιαστικό ρόλο στην κλασσική οδό σύνθεσης των χολικών οξέων<sup>183</sup>. Αυτή η επίδραση των LPS είναι άμεση, εντός 90 λεπτών και διαρκεί 26 ώρες<sup>183</sup>. Επιπρόσθετα, οι LPS ελαττώνουν την έκφραση του mRNA και την ενεργότητα του CYP27A1 της εναλλακτικής οδού της σύνθεσης των χολικών οξέων και τα επίπεδα του CYP7B1 στο ήπαρ<sup>184</sup>.

Το CYP27A1 και το CYP7B1 μειώνονται μέσα σε 8 – 16 ώρες μετά τη χορήγηση των LPS και η μείωση τους διαρκεί 24 ώρες. Έτσι, η APR καταστέλλει την κλασική και την εναλλακτική οδό της σύνθεσης των χολικών οξέων. Όμοια με τις LPS, ο TNF και η IL-1 μειώνουν την έκφραση του mRNA του CYP27A1 και του CYP7B1 στο ήπαρ<sup>184</sup>.

Όταν καταστέλλεται μια οδός σύνθεσης των χολικών οξέων, τα ένζυμα της άλλης οδού ενεργοποιούνται για να αντισταθμίσουν την έλλειψη της. Αντίθετα, στις λοιμώξεις παρατηρείται μια συντονισμένη καταστολή των οδών σύνθεσης των χολικών οξέων. Η καταστολή της κλασσικής και της εναλλακτικής οδού της σύνθεσης των χολικών οξέων σε λοίμωξη/φλεγμονή δείχνει ότι ο οργανισμός προσπαθεί να διαφυλάξει τη χοληστερόλη και να περιορίσει την απομάκρυνσή της από το σώμα.

### 3.1.2.3 Η ενδοηπατική χολόσταση και ο μεταβολισμός της χοληστερόλης

Η λοίμωξη συχνά συνοδεύεται από ενδοηπατική χολόσταση η οποία συνεισφέρει στη διαταραχή του μεταβολισμού της χοληστερόλης. Οι LPS σε κουνέλια ελαττώνουν την πρόσληψη των χολικών αλάτων και την απέκκριση των χολικών αλάτων, αφού καταστέλλουν τη δραστηριότητα πολλών μεταφορέων που συμμετέχουν στην πρόσληψη (NCTP, OATP1 και OATP2)<sup>185,186</sup> και την απέκκριση τους από τα ηπατοκύτταρα (BSEP και MRP2)<sup>186,187</sup>. Οι LPS και οι κυτταροκίνες σε αρουραίους ελαττώνουν την έκφραση των MDR2 που επηρεάζουν την έκκριση των φωσφολιπιδίων στη χολή. Επιπλέον, οι LPS μειώνουν την έκφραση του mRNA των ABCG5 και των ABCG8 στα ηπατοκύτταρα, που επηρεάζουν την απέκκριση της χοληστερόλης στη χολή<sup>188</sup>. Έτσι, κατά τη διάρκεια των λοιμώξεων η χολική έκκριση των χολικών αλάτων, των φωσφολιπιδίων και της χοληστερόλης είναι ελαττωμένη (**εικόνα 7**).

## 3.2 Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΛΟΙΜΩΞΕΩΝ ΣΤΑ LDL ΣΩΜΑΤΙΔΙΑ

### 3.2.1 Ο μεταβολισμός των LDL σε οξείες λοιμώξεις

Κατά τη διάρκεια της αντίδρασης οξείας φάσης στον άνθρωπο, τα επίπεδα των LDL σωματιδίων, της ολικής και της LDL χοληστερόλης ελαττώνονται. Πιθανά, η μείωση των λιποπρωτεϊνών είναι ο κύριος μηχανισμός για την ελάττωση των επιπέδων της χοληστερόλης και τελικά ο οργανισμός δεν καταφέρνει να διατηρήσει τη χοληστερόλη για την αποκατάσταση των κυτταρικών βλαβών με την αύξηση της σύνθεσης και την καταστολή της αποβολής της, όπως έδειξαν οι μελέτες σε τρωκτικά που περιγράφηκαν παραπάνω. Επιπλέον, η APR προκαλεί σημαντικές αλλαγές στις LDL που επάγουν την αθηρωμάτωση. Οι κυριότεροι μηχανισμοί περιγράφονται παρακάτω. Ακόμη, είναι αξιοσημείωτες οι μεταβολές που αφορούν τα μικρά πυκνά LDL σωματίδια (**κεφάλαιο 7**) και την Lp-PLA<sub>2</sub> (**κεφάλαιο 8**) που περιγράφονται αναλυτικά σε ξεχωριστά κεφάλαια.

1. Η οξειδωτική τροποποίηση των LDL σωματιδίων διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στην παθογένεση της αθηροσκλήρωσης<sup>189</sup>. Οι λοιμώξεις ευνοούν την οξείδωση των LDL σωματιδίων. Πράγματι, στα ζώα οι LPS αυξάνουν τα επίπεδα πολλών δεικτών της υπεροξειδωσίας των λιπιδίων [συζευγμένα

διένια, TBARS (thiobarbituric acid-reactive substances), υπεροξειδία των λιπιδίων, λυσοφωσφατιδυλοχολίνη (lysophosphatidylcholine, lysoPC)]<sup>190</sup>. Επιπρόσθετα, οι LDL που απομονώθηκαν από ζώα στα οποία χορηγήθηκαν LPS είναι ευαίσθητες στην οξειδωση in vitro<sup>190</sup>. Ακόμη, σε παιδιά με λοίμωξη βρέθηκε ότι οι LDL είναι περισσότερο ευαίσθητες στην οξειδωση και τα επίπεδα των αντισωμάτων κατά της οξειδωμένης LDL είναι αυξημένα<sup>191</sup>.

2. Η CRP είναι μια κλασική πρωτεΐνη οξείας φάσης<sup>192</sup> η οποία συσχετίζεται με τις LDL και βρίσκεται στις αθηρωματικές πλάκες<sup>193</sup>. Ακόμη πιο ευαίσθητος δείκτης της χαμηλής έντασης φλεγμονής είναι η hsCRP, ενώ τα αυξημένα επίπεδά της στον ορό αποτελούν ισχυρό προγνωστικό παράγοντα για CVD<sup>194-199</sup>. Μελέτες έδειξαν ότι η CRP συνδέεται με τις LDL και επηρεάζει την πρόσληψη των μη τροποποιημένων LDL σωματιδίων από τα μακροφάγα με αποτέλεσμα το σχηματισμό αφρωδών κυττάρων<sup>200</sup>.

3. Η secretory phospholipase A<sub>2</sub> (sPLA<sub>2</sub>) έχει την ιδιότητα να υδρολύει φωσφολιπίδια<sup>201</sup>. Η υδρόλυση των φωσφολιπιδίων των LDL από την sPLA<sub>2</sub> τροποποιεί τα LDL σωματίδια και διευκολύνει τη μετακίνηση και τη συσσώρευσή τους υποενδοθηλιακά. Επιπρόσθετα, τα τροποποιημένα (από την sPLA<sub>2</sub>) LDL σωματίδια έχουν αυξημένη ικανότητα να συνδέονται με τις πρωτεογλυκάνες του αρτηριακού τοιχώματος<sup>202,203</sup> και τελικά προσλαμβάνονται εύκολα από τα μακροφάγα<sup>204,205</sup>. Έτσι, η υδρόλυση των φωσφολιπιδίων των LDL ευνοεί την παραμονή των LDL στον υπενδοθηλιακό χώρο και την αθηρογένεση<sup>203</sup>. Πράγματι, διαγονιδιακά ποντίκια που εκφράζουν την ανθρώπινη sPLA<sub>2</sub> εμφανίζουν σημαντικό βαθμό αθηροσκλήρωση ακόμη και όταν τρέφονται με δίαιτα με χαμηλά λιπαρά<sup>206</sup>. Η sPLA<sub>2</sub> του ορού είναι σημαντικά αυξημένη σε λοιμώξεις/φλεγμονές<sup>206,207</sup> επειδή σε οξείες και χρόνιες φλεγμονώδεις καταστάσεις παράγονται κυτταροκίνες, όπως η IL-1β, η IL-6, ο TNFα και η INF-γ, οι οποίες αυξάνουν την sPLA<sub>2</sub><sup>208-210</sup>. Η επίδραση της sPLA<sub>2</sub> στις HDL περιγράφεται παρακάτω.

4. Ο εμπλουτισμός των LDL σωματιδίων με σφιγγολιπίδια τα μετατρέπει σε περισσότερο αθηρογόνα μόρια. Πράγματι, οι σφιγγομυελίνες των LDL που βρίσκονται υπενδοθηλιακά, με τη μεσολάβηση των σφιγγομυελινασών μετατρέπονται σε κεραμίδια. Οι πλούσιες σε κεραμίδια LDL προσλαμβάνονται εύκολα από τα μακροφάγα όπου συσσωρεύονται<sup>211</sup>. Έτσι, οι LDL που απομονώνονται από τις αθηρωματικές βλάβες είναι πλούσιες σε

σφιγγομυελίνη, κεραμίδια και γλυκοσυλκεραμίδια<sup>212,213</sup>. Πράγματι, τα επίπεδα των σφιγγομυελινών του πλάσματος είναι αυξημένα σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο<sup>214,215</sup>. Κατά τη διάρκεια της APR, οι LPS και οι κυτταροκίνες αυξάνουν την παραγωγή των κεραμιδίων και της σφιγγομυελίνης στο ήπαρ<sup>150,216</sup>. Έτσι, οι LDL εμπλουτίζονται με κεραμίδια, σφιγγομυελίνη και γλυκοσφιγγολιπίδια<sup>94,150</sup>. Η επίδραση των σφιγγολιπιδίων στις HDL περιγράφεται παρακάτω.

#### 5.Αύξηση της κάθαρσης των LDL

Η δραστηριότητα των υποδοχέων των LDL (LDL-R) είναι ένας ουσιαστικός ρυθμιστικός παράγοντας των επιπέδων των LDL σωματιδίων στο πλάσμα. Περισσότερο από τα 2/3 των LDL-R βρίσκονται στο ήπαρ και επηρεάζουν την πρόσληψη των LDL από τα κύτταρα, με αποτέλεσμα την ελάττωση των LDL σωματιδίων και της LDL-C στο πλάσμα<sup>73</sup>. Η ρύθμιση της έκφρασης του γονιδίου των LDL-R στο επίπεδο μεταγραφής εξαρτάται από την ενδοκυττάρια περιεκτικότητα σε στερόλες<sup>217,218</sup>. Επιπλέον, πολλές κυτταροκίνες [TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , oncostatin M, (OM)], επάγουν την έκφραση των R-LDL. Ο TNF- $\alpha$  και η IL-1 $\beta$  αυξάνουν την έκφραση των LDL-R υποδοχέων μόνο όταν υπάρχει ενδοκυττάρια ένδεια στερολών, ένα γεγονός που υποδεικνύει ότι η επίδρασή τους εξαρτάται από το ρυθμιστικό μηχανισμό που περιγράφηκε παραπάνω<sup>219</sup>. Αντίθετα, η OM μια κυτταροκίνη που παράγεται κυρίως από τα ενεργοποιημένα T λεμφοκύτταρα επάγει την έκφραση των LDL-R ανεξάρτητα από τα επίπεδα των ενδοκυττάρων στερολών<sup>220</sup>. Επιπρόσθετα, μελέτες έδειξαν ότι η IL-6 ελαττώνει τα επίπεδα της χοληστερόλης στο πλάσμα επειδή επάγει τη δραστηριότητα των LDL-R στο ήπαρ και επιταχύνει την απομάκρυνση των LDL σωματιδίων<sup>221</sup>. Ειδικότερα η IL-6 επάγει την έκφραση των LDL-R ανεξάρτητα από τα επίπεδα των ενδοκυττάρων στερολών. Πιθανά η IL-6 επιδρά άμεσα στον προαγωγό του γονιδίου των LDL-R<sup>221</sup>. Ενώ στον άνθρωπο οι παράγοντες φλεγμονής επάγουν τη δραστηριότητα των LDL-R, στα ζώα οι LPS έχουν τα αντίθετα αποτελέσματα<sup>222</sup>. Αυτές οι διαφορές μπορούν να εξηγήσουν τη διαφορετική επίδραση της φλεγμονής στα επίπεδα της LDL-C σε διαφορετικά είδη. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι παράγοντες που ευοδώνουν τη φλεγμονή αυξάνουν την κάθαρση των LDL σωματιδίων, τροποποιούν σημαντικά τη δομή και τη λειτουργία των LDL και τις μετατρέπουν σε περισσότερο αθηρογόνα σωματίδια.

### 3.2.2 Lp(a) και οξεία λοίμωξη

Η Lipoprotein a [Lp(a)] είναι ένα μακρομόριο που αποτελείται κυρίως από LDL σωματίδια που συνδέονται ομοιοπολικά με την apo(a). Η Lp(a) είναι λιποπρωτεΐνη των πρωτευνόντων θηλαστικών και δεν βρίσκεται στα τρωκτικά και σε άλλα είδη<sup>223</sup>. Τα επίπεδα της Lp(a) του πλάσματος ποικίλλουν και καθορίζονται κυρίως από γενετικούς παράγοντες και από το ρυθμό παραγωγής της (και όχι από τον καταβολισμό της<sup>224</sup>). Ωστόσο, ορισμένες ορμόνες<sup>225</sup> (οιστρογόνα, τεστοστερόνη, αυξητική ορμόνη, θυρεοειδικές ορμόνες), η νεφρική ανεπάρκεια<sup>226</sup>, το αλκοόλ<sup>227</sup> και φάρμακα (αναστολείς της πρωτεάσης του HIV<sup>228</sup>) επηρεάζουν τα επίπεδα της Lp(a) του πλάσματος.

Ο ρόλος της Lp(a) δεν είναι γνωστός. Πιθανά, η Lp(a) συνεισφέρει στην επούλωση τραυμάτων και στην απομάκρυνση των οξειδωμένων λιπιδίων, καθώς περιέχει τη συσχετιζόμενη με λιποπρωτεΐνες φωσφολιπάση A2 (Lp-PLA<sub>2</sub>)<sup>229</sup> (**κεφάλαιο 8**). Τα τελευταία χρόνια η Lp(a) αναγνωρίστηκε ως ένας ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για τη στεφανιαία νόσο<sup>230</sup>.

Η επίδραση της APR στα επίπεδα της Lp(a) του ορού δεν έχει αποσαφηνισθεί. Μελέτες έδειξαν ότι η Lp(a) είναι μια θετική πρωτεΐνη οξείας φάσης<sup>231,232</sup>. Πράγματι, τα επίπεδα της Lp(a) του πλάσματος αυξάνονται μετά από έμφραγμα του μυοκαρδίου<sup>233</sup> και χειρουργικές επεμβάσεις<sup>231</sup>, πιθανά για να παρέχει λιπίδια στις ιστικές βλάβες. Ωστόσο, άλλη μελέτη έδειξε ότι η Lp(a) είναι αρνητική πρωτεΐνη οξείας φάσης και τα επίπεδα της ελαττώθηκαν σε ασθενείς με σηψαιμία και εγκαύματα που νοσηλεύονται στη Μονάδα Εντατικής Θεραπείας<sup>162</sup>. Ακόμη, άλλες μελέτες δεν έδειξαν μεταβολές των επιπέδων της Lp(a) σε καταστάσεις λοίμωξης/ φλεγμονής<sup>234</sup>.

Οι μηχανισμοί με τους οποίους η φλεγμονή επιδρά στα επίπεδα της Lp(a) του πλάσματος δεν έχουν αποσαφηνισθεί. Ωστόσο, η παραγωγή της Lp(a) εξαρτάται από τη ποσότητα της διαθέσιμης apo(a) που παράγεται στο ήπαρ<sup>235</sup> και η έκφραση του γονιδίου που κωδικοποιεί την apo(a) επηρεάζεται από φλεγμονώδεις παράγοντες<sup>236-238</sup>. Πράγματι, τα επίπεδα του mRNA της Lp(a) και της apo(a) σε καλλιέργειες ηπατοκυττάρων αυξάνονται με την επίδραση της IL-6 και ελαττώνονται με την επίδραση του TGFβ1 και του TNFα<sup>236</sup>.



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

### Ο ΡΟΛΟΣ ΚΑΙ ΟΙ ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΤΩΝ HDL ΣΕ ΟΞΕΙΑ ΛΟΙΜΩΞΗ

Οι λιποπρωτεΐνες υψηλής πυκνότητας (High density lipoproteins, HDL) είναι οι μικρότερες λιποπρωτεΐνες του πλάσματος. Το βασικό δομικό συστατικό τους είναι η ApoA1 και η κύρια λειτουργία τους είναι η μεταφορά της χοληστερόλης από τα περιφερικά κύτταρα στο ήπαρ (ανάστροφη μεταφορά χοληστερόλης)<sup>239</sup>.

#### 4.1 Οι HDL περιορίζουν τις βλαπτικές επιδράσεις της οξείας λοίμωξης

Οι λιποπρωτεΐνες συνεισφέρουν στην άμυνα κατά των λοιμώξεων και ο ρόλος τους, καθώς και οι μηχανισμοί δράσης τους περιγράφονται αναλυτικά στο **κεφάλαιο 6**. Ωστόσο, το σημαντικότερο ρόλο στην άμυνα κατά των λοιμώξεων σε σύγκριση με τις άλλες λιποπρωτεΐνες έχουν οι HDL. Πράγματι, οι HDL έχουν αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες:

*A) Αναστολή της προσκόλλησης των κυττάρων που ευοδώνουν τη φλεγμονή<sup>239</sup>.* Η προσκόλληση των λευκοκυττάρων στο ενδοθήλιο είναι απαραίτητο βήμα στη διαδικασία της αθηροσκλήρωσης (**εικόνα 1**). Οι HDL αναστέλλουν την ευνοϊκή επίδραση των κυτταροκινών στην έκφραση των προσκολλητικών μορίων του ενδοθηλίου [VCAM-1 (vascular-cell adhesion molecule-1), ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1) και E-selectin] σε πειράματα in vitro<sup>240</sup> και in vivo<sup>241</sup>.

*B) Αύξηση της έκφρασης της συνθετάσης του νιτρικού οξειδίου (NO) στο ενδοθήλιο (eNOS)<sup>239</sup>.* Το νιτρικό οξείδιο (NO) είναι ένας ενδογενής αγγειοδιασταλτικός παράγοντας με αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες. Στην παραγωγή του NO συμμετέχουν οι συνθετάσες του NO: νευρωνική συνθετάση (nNOs), ενδοθηλιακή συνθετάση (eNOs) και επαγόμενη συνθετάση (iNOs)<sup>242</sup>. Οι HDL ευνοούν τη δραστηριότητα της eNOS στα ενδοθηλιακά κύτταρα και αυξάνουν την παραγωγή του NO<sup>239,242</sup>.

*Γ) Σύνδεση και εξουδετέρωση των LPS<sup>239</sup>.* Η πρωτεΐνη LPS binding protein (LBP) μεταφέρεται με τις λιποπρωτεΐνες και βοηθά τη σύνδεση των λιποπρωτεϊνών με τις LPS<sup>243</sup>. Η LBP συσχετίζεται κυρίως με την ApoA1, με αποτέλεσμα οι LPS να συνδέονται περισσότερο με τις HDL συγκριτικά με τις άλλες λιποπρωτεΐνες<sup>239,244</sup>. Η LBP διευκολύνει τη μεταφορά και τη σύνδεση

των LPS με το CD14 (υποδοχέας στην επιφάνεια των λευκοκυττάρων)<sup>245</sup>. Σε χαμηλές συγκεντρώσεις, η LBP διευκολύνει τη μεταφορά των LPS στο CD14 στην επιφάνεια των μονοκυττάρων και μακροφάγων, με αποτέλεσμα την κυτταρική ενεργοποίηση και την αύξηση των επιδράσεων των LPS. Αντίθετα, σε υψηλότερες συγκεντρώσεις η LBP μεταφέρει τις LPS στις λιποπρωτεΐνες, όπου εξουδετερώνονται<sup>246</sup>. Η LBP παράγεται επίσης στο έντερο και τους πνεύμονες, όπου μπορεί να διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στην τοπική επίδραση των LPS<sup>247,248</sup>. Ποντίκια με ανεπάρκεια της LBP είναι επιρρεπή σε Gram(-) βακτηριακή λοίμωξη<sup>249</sup>. Επιπλέον, η συστηματική έγχυση της LBP σε ζώα που έλαβαν LPS ή έχουν λοίμωξη από βακτήρια μειώνει την απελευθέρωση κυτταροκινών και τη θνητότητα<sup>250</sup>. Ακόμη, η έγχυση HDL ελαττώνει την έκφραση των CD14 στα μονοκύτταρα<sup>251</sup>.

Η πρωτεΐνη που μεταφέρει φωσφολιπίδια (Phospholipid transfer protein, PLTP) είναι μια πρωτεΐνη που συσχετίζεται με τις HDL και έχει την ικανότητα να δεσμεύει και να μεταφέρει τις LPS στις HDL<sup>244</sup>.

## **4.2 Οι ποσοτικές και οι ποιοτικές μεταβολές των HDL σε οξείες λοιμώξεις**

### **4.2.1 Οι πρωτεΐνες των HDL μεταβάλλονται και οι HDL χάνουν την ικανότητά τους να προστατεύουν τις LDL από την οξείδωση**

Πράγματι, σε οξείες λοιμώξεις οι πρωτεΐνες των HDL μεταβάλλονται, οι HDL χάνουν την ικανότητά τους να προστατεύουν τις LDL από την οξείδωση και γίνονται προαθηρογόνες<sup>252-254</sup>. Οι πρωτεΐνες των HDL που μεταβάλλονται σε οξεία λοίμωξη είναι η paraoxonase (PON), η σερουλοπλασμίνη, η τρανσφερρίνη, η apoJ, η apoA1 και η συσχετιζόμενη με λιποπρωτεΐνες φωσφολιπάση A2 (Lipoprotein-Associated Phospholipase A<sub>2</sub>, Lp-PLA<sub>2</sub>)<sup>252</sup>.

Η PON1 στον ορό βρίσκεται στις HDL και μεταβολίζει τα υπεροξειδία των λιπιδίων. Σε οξείες λοιμώξεις η ενεργότητα της PON1 στις HDL είναι μειωμένη (**κεφάλαιο 9**). Η μείωση της ενεργότητας της PON1 έχει ως αποτέλεσμα την ελάττωση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των HDL<sup>239,255</sup> (**κεφάλαιο 9.1.2**).

Η Lp-PLA<sub>2</sub> καταλύει την υδρόλυση της ακετύλ-ομάδας στη θέση sn2 του PAF και τον μετατρέπει σε ανενεργούς μεταβολίτες (**κεφάλαιο 8**). Η ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> των HDL σωματιδίων αποτελεί μικρό μόνο ποσοστό της συνολικής ενεργότητας του πλάσματος (**κεφάλαιο 8.4**). Πολλές μελέτες



έδειξαν διαφορετικές μεταβολές της ενεργότητας της Lp-PLA<sub>2</sub> σε οξεία λοίμωξη/φλεγμονή που προκλήθηκε σε διαφορετικά είδη, με διαφορετικό τύπο διέγερσης (**κεφάλαιο 8**).

Η σερουλοπλασμίνη είναι μια δεσμευτική πρωτεΐνη, επάγει την οξειδωση της LDL και συσχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο για στεφανιαία νόσο<sup>256</sup>. Η σερουλοπλασμίνη αυξάνεται σε οξεία λοίμωξη<sup>252,257</sup>.

Η τρανσφερρίνη που δεσμεύει τον σίδηρο έχει αντιοξειδωτικές ιδιότητες και ελαττώνεται σε οξείες λοιμώξεις<sup>252,258</sup>.

Η apoJ (clusterin) είναι μια γλυκοπρωτεΐνη και στο πλάσμα συνδέεται με την HDL. Η apoJ μεταφέρει λιπίδια, προστατεύει τις κυτταρικές μεμβράνες και συμμετέχει στη ρύθμιση του συμπληρώματος, των ορμονών και την απόπτωση των κυττάρων<sup>259</sup>. Σε οξεία λοίμωξη τα επίπεδα της apoJ αυξάνουν, ωστόσο ο ρόλος της στην αθηρογένεση παραμένει ασαφής<sup>252,260</sup>.

#### **4.2.2 Οι οξείες λοιμώξεις επηρεάζουν την ανάστροφη μεταφορά χοληστερόλης (RCT)**

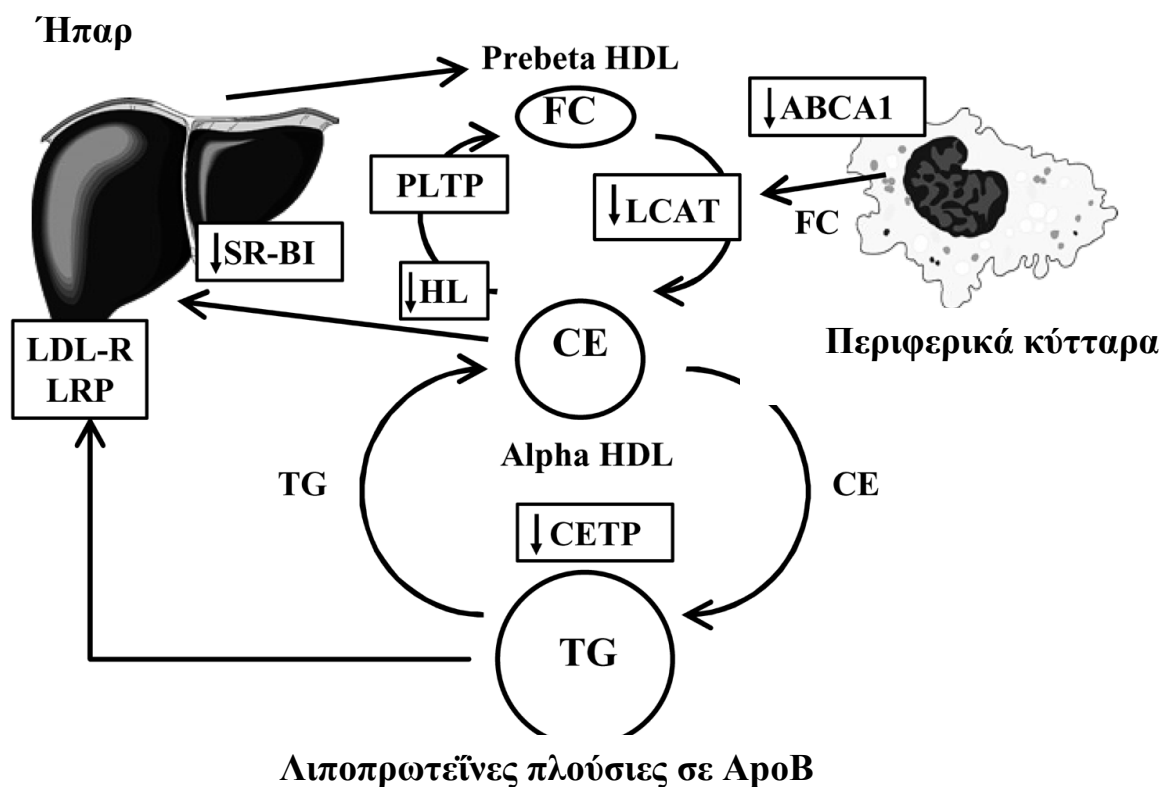
Σε οξείες λοιμώξεις παρατηρούνται μεταβολές σε όλα τα στάδια της RCT. Ειδικότερα, η χορήγηση LPS και η αύξηση των κυτταροκινών ελαττώνουν τα επίπεδα και την έκφραση του mRNA των ABCA1<sup>188,261</sup>.

Ακόμη, σε οξείες λοιμώξεις μειώνεται η ενεργότητα της LCAT. Η μείωση της LCAT μειώνει την HDL-C εξαιτίας της διαταραχής της εστεροποίησης της<sup>262</sup>. Η ελάττωση της LCAT οφείλεται: α) στην άμεση επίδραση των κυτταροκινών στη LCAT<sup>263</sup> β) σε μεταβολή της σύστασης των HDL (αυξημένη περιεκτικότητα σε σφιγγομυελίνη) με αποτέλεσμα τη μειωμένη δυνατότητα επίδρασης της LCAT στην HDL<sup>264</sup> γ) την αντικατάσταση της ApoA1 (που ενεργοποιεί την LCAT) από αμυλοειδές A (serum amyloid A, SAA)<sup>265,266</sup>.

Επιπλέον, η PLTP ελαττώνεται σε αρουραίους μετά τη χορήγηση LPS<sup>267</sup> αλλά τα αποτελέσματα σε ανθρώπους είναι αντικρουόμενα<sup>177,268</sup>. Άλλη μελέτη σε ασθενείς με περιοδοντίτιδα έδειξε ότι η μάζα της PLTP αυξάνεται και η ενεργότητα της PLTP, της CETP και της LCAT μειώνονται<sup>167</sup>. Οι μεταβολές και ο ρόλος της PLTP στη λοίμωξη δεν έχουν διευκρινισθεί (πιθανά συμμετέχει στη σύνδεση και την εξουδετέρωση των LPS όπως περιγράφηκε παραπάνω)<sup>269</sup>. Επιπρόσθετα, τα χαμηλά επίπεδα της CETP περιορίζουν τη

μεταφορά των εστέρων χοληστερόλης στις πλούσιες σε TG λιποπρωτεΐνες και καθυστερούν περαιτέρω την RCT<sup>270,271</sup>.

Επιπλέον, οι LPS, ο TNF και η IL-1 σε πειραματόζωα μειώνουν την έκφραση του mRNA και των επιπέδων των SR-BI υποδοχέων στο ήπαρ με αποτέλεσμα τη μείωση της πρόσληψης των εστέρων χοληστερόλης από τα ηπατοκύτταρα<sup>272,273</sup>. Η ελάττωση της HL προκαλεί μείωση της παραγωγής pre-β HDL και καθιστά δυσχερή την πρόσληψη της χοληστερόλης από τα ηπατοκύτταρα<sup>274</sup>.



**Εικόνα 8. Οι μεταβολές στην ανάστροφη μεταφορά χοληστερόλης κατά την APR**

Οι LPS και οι κυτταροκίνες ελαττώνουν τους ABCA1 μεταφορείς και την εκροή χοληστερόλης από τα περιφερικά κύτταρα στις HDL. Επιπλέον, οι LPS ελαττώνουν πολλά ένζυμα που συμμετέχουν στο μεταβολισμό των HDL, όπως τη LCAT, τη CETP και την HL. Ακόμη, οι LPS και οι κυτταροκίνες καταστέλλουν τους SR-BI με αποτέλεσμα την ελάττωση της πρόσληψης των εστέρων χοληστερόλης από το ήπαρ.

ABCA1: υποομάδα των μεταφορέων ABC (ATP binding cassette), CETP: cholesteryl ester transfer protein, FC: free cholesterol, LCAT: Lecithin-cholesterol acyltransferase, HL: hepatic lipase, LDL-R: LDL receptor, LRP: LDL receptor related protein, PLTP: phospholipid transfer protein, SR-BI: scavenger receptor class B type I, TG: triglycerides,

Η αρχική καταστολή της RCT στην οξεία φάση της λοίμωξης μπορεί να είναι ωφέλιμη γιατί οδηγεί τη χοληστερόλη στα μακροφάγα και ενισχύει την άμυνα του οργανισμού. Αντίθετα, η παρατεταμένη επίδραση της λοίμωξης στην RCT επάγει την εναπόθεση της χοληστερόλης στα μακροφάγα και την αθηρωμάτωση.

#### **4.2.3 Οι HDL και η HDL-C ελαττώνονται σε οξείες λοιμώξεις**

Παρόλο που έχει αποδειχθεί ότι η λοίμωξη/φλεγμονή ελαττώνει τα επίπεδα της HDL-C και τα επίπεδα της apoA1 ο ακριβής μηχανισμός αυτών των μεταβολών δεν έχει αποσαφηνισθεί.

A) Η μείωση της HDL-C πιθανά οφείλεται στην ελάττωση των HDL σωματιδίων επειδή: 1) Καταστέλλεται η RCT, 2) Μεταβάλλεται η σύσταση και επιταχύνεται η κάθαρση των HDL σωματιδίων.

Η αντικατάσταση της ApoA1 από το αμυλοειδές A (serum amyloid A, SAA), εκτός από την επίδραση στην ανάστροφη μεταφορά χοληστερόλης διευκολύνει την απομάκρυνση των πλούσιων σε SAA HDL σωματιδίων από το πλάσμα<sup>275</sup>. Έτσι, η αυξημένη κάθαρση των HDL έχει ως αποτέλεσμα την ελάττωση των HDL και της HDL-C. Επειδή το SAA<sup>265,266</sup> εκτοπίζει και αντικαθιστά την apoA1 στα HDL σωματίδια και οι HDL πλούσιες σε SAA απομακρύνονται πιο εύκολα από την κυκλοφορία<sup>275</sup>, έχει υποτεθεί ότι ο εμπλουτισμός των HDL σε SAA είναι ένας μηχανισμός που μπορεί να εξηγήσει την ελάττωση των HDL και των επιπέδων των apoA1.

Ωστόσο, η ελάττωση των HDL γίνεται πολύ νωρίτερα από την αύξηση των επιπέδων του SAA<sup>276</sup>. Επιπλέον, σε ποντίκια στα οποία τα επίπεδα του SAA αυξήθηκαν σημαντικά δεν παρατηρήθηκαν αλλαγές στα επίπεδα της HDL και της apoA1<sup>277</sup>. Έτσι, μόνο η αύξηση των επιπέδων του SAA δεν αρκεί για την ελάττωση της HDL και της apoA1.

Η αύξηση της sPLA2 (secretory phospholipase A2) προτάθηκε επίσης ως ένας πιθανός μηχανισμός για τη μείωση της HDL κατά τη διάρκεια της λοίμωξης/φλεγμονής. Ποντίκια με υπερέκφραση της sPLA<sub>2</sub> εμφανίζουν μειωμένες συγκεντρώσεις HDL<sup>207</sup> και αυτές οι HDL καταβολίζονται γρήγορα και απομακρύνονται από την κυκλοφορία<sup>278</sup>. Μελέτες έδειξαν ότι το SAA αυξάνει τη sPLA<sub>2</sub><sup>279</sup>. Ωστόσο, όταν η sPLA<sub>2</sub> είναι αυξημένη, η επιπρόσθετη αύξηση του SAA δεν προκαλεί επιπλέον ελάττωση της HDL και της apoA1<sup>280</sup>.

Έτσι, πιθανά η ελάττωση της HDL κατά την APR δεν οφείλεται στο SAA αλλά στην sPLA<sub>2</sub>. Πράγματι, η sPLA<sub>2</sub> όταν επωάζεται με τις HDL (και τις LDL) υδρολύει τα φωσφολιπίδια που περιέχουν<sup>281</sup> και τροποποιεί τη δομή και το μεταβολισμό τους in vivo. Πρέπει να αναφερθεί ότι οι LBP σε περίπτωση λοίμωξης μειώνουν επίσης τα φωσφολιπίδια των HDL και τροποποιούν τη δομή τους επειδή μεταφέρουν φωσφολιπίδια από το πλάσμα στους ιστούς<sup>177</sup>. Η σημαντική μείωση των φωσφολιπιδίων των HDL οδηγεί σε αύξηση της κάθαρσης τους και μείωση των επιπέδων των HDL και της HDL-C σε ασθενείς με οξεία λοίμωξη<sup>177,278,280,282</sup>.

Β) Πιθανά ένας άλλος μηχανισμός που συμμετέχει στην ελάττωση των HDL σωματιδίων είναι η ελάττωση της παραγωγής τους και η επιτάχυνση του καταβολισμού τους<sup>283</sup> εξαιτίας της επίδρασης των κυτταροκινών<sup>165</sup>.

Γ) Επιπλέον, αναφέρεται ότι οι λιποπρωτεΐνες πιθανά ανακατανέμονται από τον ενδαγγειακό στον εξωαγγειακό χώρο εξαιτίας της αύξησης της διαπερατότητας των τριχοειδών που παρατηρείται σε οξεία λοίμωξη. Όσον αφορά αυτό το μηχανισμό δεν υπάρχουν επαρκή στοιχεία. Άλλωστε εξαιτίας του μεγάλου μεγέθους του μορίου των λιποπρωτεϊνών μόνο μικρές ποσότητες μπορούν να διέλθουν στον εξωαγγειακό χώρο<sup>163,169</sup>.

#### 4.2.4 Μεταβάλλεται η σύνθεση των HDL

Οι ουσιαστικές αλλαγές που αφορούν τις πρωτεΐνες και τις απολιποπρωτεΐνες των HDL περιγράφηκαν παραπάνω: αύξηση των επιπέδων του SAA<sup>91,265,284-286</sup> και ελάττωση των επιπέδων της apoA1<sup>91,265,286,287</sup>. Η apoJ που συσχετίζεται με τις HDL αυξάνεται σε οξεία λοίμωξη<sup>253</sup>. Επιπλέον, τα επίπεδα της apoAII και των apoCs<sup>91,265,286,288</sup> ελαττώνονται και της apoE αυξάνονται<sup>91,268</sup> ή ελαττώνονται<sup>286</sup>. Επιπρόσθετα, μεταβάλλονται οι πρωτεΐνες των HDL: η PON1, η σερουλοπλασμίνη, η τρανσφερίνη, η apoJ, η apoAI και η Lp-PLA<sub>2</sub><sup>252</sup>. Ακόμη, οι HDL της “οξείας φάσης” περιέχουν μικρότερες ποσότητες εστεροποιημένης χοληστερόλης και είναι πλουσιότερες σε ελεύθερη χοληστερόλη, τριγλυκερίδια και σφιγγολιπίδια<sup>94</sup>.

Οι HDL διακρίνονται στις μεγάλες (HDL2b και HDL2a) πλούσιες σε λιπίδια και τις μικρές (HDL3a, HDL3b and HDL3c) πτωχές σε λιπίδια HDL<sup>289</sup>. Μεταβολές στα υποκλάσματα της HDL έχουν περιγραφεί σε ασθενείς με περιοδοντίτιδα. Συγκεκριμένα παρατηρήθηκε ελάττωση της συνολικής HDL-C χοληστερόλης

και της αναλογίας HDL<sub>2</sub>/HDL<sub>3</sub>. Ωστόσο, δεν υπάρχουν πολλά δεδομένα για τις μεταβολές των υποκλασμάτων των HDL σε ασθενείς με λοιμώξεις<sup>167</sup>.

Πολλές μεταβολές των HDL αποτελούν μέρος της απάντησης του ξενιστή στην οξεία λοίμωξη και έχουν σημαντικά και ωφέλιμα αποτελέσματα. Εντούτοις η λοίμωξη μπορεί να μεταβάλλει ποιοτικά και ποσοτικά τα HDL σωματίδια και να επηρεάσει την RCT με πολλούς μηχανισμούς. Ορισμένες από αυτές τις μεταβολές οδηγούν στην απώλεια των αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων και της προστατευτικής ικανότητας των HDL.



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

### ΑΠΟΛΙΠΟΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΚΑΙ ΛΟΙΜΩΞΗ

Οι απολιποπρωτεΐνες (apolipoproteins, apo) είναι δομικό συστατικό των λιποπρωτεϊνών και συμμετέχουν σε σημαντικές λειτουργίες. Πράγματι, οι apo είναι απαραίτητες για την ενεργοποίηση ενζύμων και επηρεάζουν σε σημαντικό βαθμό τη δέσμευση των λιποπρωτεϊνών στις κυτταρικές μεμβράνες. Μελέτες που αφορούν την επίδραση της λοίμωξης/φλεγμονής στις απολιποπρωτεΐνες αναφέρονται παρακάτω:

#### 5.1 ApoA1

Η apoA1 συντίθεται κυρίως στο ήπαρ και αποτελεί ουσιαστικό συστατικό των HDL σωματιδίων<sup>290</sup>. Πολλές μελέτες έδειξαν ότι σε λοίμωξη τα επίπεδα της apoA1 του ορού ελαττώνονται σημαντικά. Πράγματι, σε ασθενείς με λοιμώξεις (ιογενείς ή βακτηριακές)<sup>84</sup>, βακτηριακή φαρυγγίτιδα<sup>168</sup>, περιοδοντίτιδα<sup>291</sup>, σηψαιμία<sup>161,163,165,292</sup>, λοίμωξη από HIV<sup>83</sup>, ελονοσία<sup>166</sup>, λείσμανίαση<sup>293,294</sup> και σε υγιείς εθελοντές που έλαβαν ενδοτοξίνη<sup>177</sup> βρέθηκαν σημαντικά μειωμένα επίπεδα apoA1 στον ορό. Ακόμη, η χορήγηση ανασυνδυασμένης IL-2 προκαλεί σημαντική ελάττωση των επιπέδων της apoA1 του ορού σε ασθενείς με νεοπλάσματα<sup>103</sup>.

Η μείωση των επιπέδων της apoA1 οφείλεται στην ελάττωση της παραγωγής της από το ήπαρ εξαιτίας της άμεσης επίδρασης των κυτταροκινών. Τα επίπεδα του mRNA και η ηπατική παραγωγή της apoA1 ελαττώνονται σε καλλιέργειες ηπατοκυττάρων όταν αυτά επωάζονται με παράγοντες που ευοδώνουν τη φλεγμονή<sup>295</sup>. Επιπρόσθετα, η παραγωγή της apoA1 και της apoB ελαττώθηκε σημαντικά σε κύτταρα ηπατώματος που επωάσθηκαν με κυτταροκίνες (TNF $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ )<sup>283</sup>. Μελέτες έδειξαν ότι σε ασθενείς σε σοβαρή κατάσταση στη Μονάδα Εντατικής Θεραπείας τα επίπεδα της apoA1 ελαττώθηκαν σημαντικά και είχαν αρνητική συσχέτιση με παράγοντες που ευοδώνουν τη φλεγμονή (IL-6, soluble IL-2 receptor, IL-10)<sup>170</sup>.

Επιπρόσθετα, όπως αναφέρθηκε παραπάνω σε καταστάσεις λοίμωξης/φλεγμονής το SAA<sup>265,266</sup> εκτοπίζει και αντικαθιστά την apoA1 στα HDL σωματίδια με αποτέλεσμα την επιτάχυνση της κάθαρσης των HDL σωματιδίων και της apoA1.

## 5.2 ApoB

Η apoB είναι συστατικό των VLDL, των LDL, των χυλομικρών και της Lp(a). Πολλές μελέτες έδειξαν ότι οι λοιμώξεις μεταβάλλουν τα επίπεδα της apoB του ορού. Πράγματι, στις μελέτες που περιγράφηκαν παραπάνω για την επίδραση της λοίμωξης στην apoA, προσδιορίστηκαν παράλληλα τα επίπεδα της apoB και βρέθηκε ότι η λοίμωξη ελαττώνει τα επίπεδα της apoB.

Πράγματι, ασθενείς με βακτηριακή φαρυγγίτιδα<sup>168</sup>, σηψαιμία<sup>165</sup>, ασθενείς σε σοβαρή κατάσταση στη Μονάδα Εντατικής Θεραπείας<sup>170</sup>, ασθενείς με λοίμωξη από HIV<sup>83</sup> ή με λειψμανίαση<sup>294</sup>, καθώς και υγιείς εθελοντές που έλαβαν ενδοτοξίνη<sup>177</sup> εμφανίζουν σημαντικά μειωμένα επίπεδα apoB στον ορό. Ωστόσο, άλλες μελέτες έδειξαν αύξηση<sup>178</sup> ή δεν έδειξαν μεταβολή<sup>296</sup> των επιπέδων της apoB με την επίδραση παραγόντων που ευοδώνουν τη φλεγμονή.

Για να μελετηθεί η επίδραση των κυτταροκινών στην ηπατική σύνθεση και την έκκριση των apoB και ειδικότερα της apoB επωάσθησαν ανθρώπινα κύτταρα ηπατώματος (HepG2) με κυτταροκίνες (TNFα, IL-1β και IL-6)<sup>283</sup>. Η μελέτη αυτή έδειξε ότι οι κυτταροκίνες προκαλούν σημαντική και δόσοεξαρτώμενη μείωση της έκκρισης των apoB (apoB, apoA1) από τα ηπατοκύτταρα. Ο TNFα, η IL-1β και η IL-6 μείωσαν τη συγκέντρωση της apoB, ωστόσο δεν επηρέασαν τα επίπεδα του mRNA της apoB στο ήπαρ<sup>283</sup>.

Σε αντίθεση με την επίδραση των κυτταροκινών στην apoA, οι κυτταροκίνες δεν επηρεάζουν την apoB στο επίπεδο της μεταγραφής και πιθανά επιδρούν στον ενδοκυττάριο καταβολισμό της<sup>296</sup> με παρόμοιο τρόπο που επηρεάζουν τα επίπεδα της apoB ορισμένες ορμόνες<sup>297-300</sup>. Πράγματι, η έκκριση της apoB ρυθμίζεται από έναν ενδοκυττάριο μηχανισμό που όταν ενεργοποιείται ελαττώνει την έκκριση της<sup>299</sup>. Παλαιότερες και πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι οι παράγοντες φλεγμονής επιδρούν στον ενδοκυττάριο μηχανισμό ρύθμισης της έκκρισης της apoB<sup>301,302</sup>.

## 5.3 ApoE

Η apoE παράγεται κυρίως από τα ηπατοκύτταρα και τα μακροφάγα<sup>303,304</sup> και βρίσκεται στα χυλομικρά, στα κατάλοιπα των χυλομικρών (remnants), στις VLDL, στα κατάλοιπα των VLDL (IDL) και στις HDL. Ο κύριος ρόλος της είναι η συμμετοχή της στο μεταβολισμό των λιποπρωτεϊνών<sup>303</sup>. Πράγματι, η



σύνδεση της apoE με τους αντίστοιχους κυτταρικούς υποδοχείς που είναι υπεύθυνοι για τον καταβολισμό των λιποπρωτεϊνών διευκολύνει: α) το μεταβολισμό των χυλομικρών και των καταλοίπων των χυλομικρών β) Το μεταβολισμό των VLDL και των καταλοίπων των VLDL γ) Την ανάστροφη μεταφοράς της χοληστερόλης δ) Την ανακατανομή της χοληστερόλης ανάμεσα στα κύτταρα ενός ιστού. Άλλες μελέτες έδειξαν ότι η apoE συσχετίζεται με τη νόσο Alzheimer και άλλες νευροπάθειες<sup>305</sup>, με νεφρικά νοσήματα<sup>306</sup>, καθώς και με νεοπλάσματα<sup>307</sup>.

Οι μελέτες για τις μεταβολές που προκαλεί η λοίμωξη στα επίπεδα της apoE έδειξαν αντίθετα αποτελέσματα. Άλλες μελέτες έδειξαν αύξηση<sup>91,268,294</sup> και άλλες ελάττωση<sup>286</sup> των επιπέδων της apoE σε λοιμώξεις. Επιπλέον, εκτός από τις μεταβολές των επιπέδων της apoE μεταβάλλεται η κατανομή της στις λιποπρωτεΐνες του πλάσματος<sup>91</sup>.

Πράγματι, η λοίμωξη ελαττώνει τα επίπεδα του mRNA της apoE στο ήπαρ<sup>94</sup>, τα μακροφάγα<sup>308</sup> και τους εξωηπατικούς ιστούς<sup>148</sup>. Επιπλέον, οι LPS ελαττώνουν τη σύνθεση της apoE στο ήπαρ<sup>147</sup> και τα μακροφάγα<sup>308</sup>.

Ο BEF-1 (BK virus enhancer factor 1) είναι μια κατασταλτική πρωτεΐνη, η οποία ελαττώνει τη σύνθεση και την παραγωγή της apoE<sup>309</sup>. Μια πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι οι κυτταροκίνες (IL-1, IL-6) επάγουν τη δραστηριότητα του BEF-1 με αποτέλεσμα την καταστολή της σύνθεσης και της παραγωγής της apoE<sup>310</sup>. Ο παραπάνω μηχανισμός ερμηνεύει την κατασταλτική επίδραση των λοιμώξεων στη σύνθεση και την παραγωγή της apoE. Παρόλο που υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις ότι η σύνθεση και η παραγωγή της apoE μειώνεται κατά τη διάρκεια της APR, είναι αξιοσημείωτο ότι σε πολλές περιπτώσεις σε λοιμώξεις παρατηρείται αύξηση των επιπέδων της apoE<sup>91,268,294</sup>.

Πρόσφατα μελετήθηκε η κάθαρση της apoE σε ασθενείς με σηψαιμία και σε ποντίκια που μολύνθηκαν με *K. Pneumoniae* και LPS<sup>311</sup>. Η μελέτη έδειξε ότι τα επίπεδα της apoE του ορού αυξήθηκαν, αντίθετα τα επίπεδα της apoC1 μειώθηκαν παρόλο που οι δύο αυτές απολιποπρωτεΐνες έχουν κοινό μηχανισμό όσον αφορά τη ρύθμιση της έκφρασης των γονιδίων τους. Η αύξηση μόνο της apoE υποδηλώνει ότι τα επίπεδα της αυξάνουν με άλλο μηχανισμό, για παράδειγμα με μείωση της κάθαρσής της.

Πράγματι, βρέθηκε ότι η λοίμωξη ελαττώνει σημαντικά τα επίπεδα του mRNA των LDL υποδοχέων<sup>311</sup>. Η apoE απομακρύνεται κυρίως από το ήπαρ με τους

υποδοχείς των LDL, καθώς και με τη μεσολάβηση των πρωτεογλυκανών (heparan sulfate proteoglycan, HSPG) των κυτταρικών μεμβρανών<sup>312</sup>. Επειδή η πρόσληψη της apoE από τους LDL υποδοχείς είναι ο κύριος μηχανισμός απομάκρυνσης της από το πλάσμα, η ελάττωση των επιπέδων του mRNA των LDL υποδοχέων φαίνεται ότι ελαττώνει την κάθαρση της apoE αυξάνει τα επίπεδά της στον ορό<sup>311</sup>.

Έχει ιδιαίτερο ενδιαφέρον το γεγονός ότι η συγκέντρωση μιας πρωτεΐνης οξείας φάσης αυξάνεται στο πλάσμα, ενώ καταστέλλεται η παραγωγή της. Το εύρημα αυτό οφείλεται στην ελαττωμένη κάθαρσής της. Πιθανά, το τελικό αποτέλεσμα (αύξηση ή ελάττωση) των επιπέδων της apoE στο πλάσμα σε ασθενή με λοίμωξη και τα διαφορετικά αποτελέσματα σε πολλές μελέτες που εκτίμησαν τα επίπεδα της apoE σε αυτούς τους ασθενείς, εξαρτώνται από το εάν η πιο ισχυρή επίδραση σε κάθε περίπτωση είναι η καταστολή της παραγωγής ή η ελάττωση της κάθαρσης της apoE.

#### 5.4 ApoCs

Οι apoCs διακρίνονται σε 3 μορφές (CI, CII, CIII)<sup>313</sup>. Η apoCI αναστέλλει την πρόσληψη των πλούσιων σε τριγλυκερίδια λιποπρωτεϊνών διαμέσου των ηπατικών υποδοχέων, κυρίως των LRP. Κατά συνέπεια η apoCI παρατείνει την παραμονή στην κυκλοφορία των πλούσιων σε τριγλυκερίδια λιποπρωτεϊνών και διευκολύνει το σχηματισμό των LDL σωματιδίων<sup>313</sup>. Η apoCII ενεργοποιεί την LPL και είναι απαραίτητη για τη λιπόλυση των πλούσιων σε TG λιποπρωτεϊνών. Σε περίπτωση έλλειψης της apoCII παρεμποδίζεται η λιπολυτική δράση της LPL στις πλούσιες σε TG λιποπρωτεΐνες με αποτέλεσμα την αύξηση των TG του ορού. Ωστόσο, η apoCII μπορεί να διαδραματίσει ένα σύνθετο ρόλο στο μεταβολισμό των TG του πλάσματος. Πράγματι, σε χαμηλές συγκεντρώσεις η apoCII ενεργοποιεί την LPL, αλλά και σε πολύ υψηλές συγκεντρώσεις αναστέλλει τη λιπόλυση των VLDL<sup>313</sup>. Η apoCIII αναστέλλει τη λιπόλυση των πλούσιων σε TG λιποπρωτεϊνών επειδή παρεμποδίζει την αλληλεπίδρασή τους με τις πρωτεογλυκάνες της LPL. Έτσι, οι πλούσιες σε TG λιποπρωτεΐνες συσσωρεύονται στο πλάσμα και τα TG του ορού αυξάνουν<sup>313</sup>.

Λίγες μελέτες έγιναν όσον αφορά την επίδραση της λοίμωξης στις apoCs. Μια μελέτη έδειξε ότι η φλεγμονή μείωσε σημαντικά τα επίπεδα του mRNA της apo

CIII, ενώ τα επίπεδα του mRNA της apoCI δεν μεταβλήθηκαν σημαντικά. Επιπλέον, αυξήθηκαν σημαντικά τα επίπεδα της apoCIII στις HDL<sup>314</sup>. Επιπρόσθετα, προσδιορίστηκαν τα επίπεδα της apoCI σε ασθενείς με σηψαιμία. Η μελέτη έδειξε ότι η λοίμωξη ελάττωσε σημαντικά τα επίπεδα της apoCI και η ελάττωση αυτή ήταν κακός προγνωστικός δείκτης για την επιβίωση των ασθενών<sup>315</sup>. Ακόμη, οι LPS ελάττωσαν τις apoCs των HDL σε πιθήκους<sup>91</sup>. Επιπλέον, η ενδοτοξίνη ελάττωσε σημαντικά τα επίπεδα της apoCII σε ποντίκια. Άλλη μελέτη έδειξε ότι οι LPS, ο TNF και η IL-1 μείωσαν σημαντικά τα επίπεδα του mRNA της apoCII σε καλλιέργειες Hep3B<sup>288</sup>.



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

### ΟΙ ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΤΩΝ ΛΙΠΟΠΡΩΤΕΙΝΩΝ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΗΣ ΛΟΙΜΩΞΗΣ/ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ ΣΥΝΕΙΣΦΕΡΟΥΝ ΣΤΗΝ ΑΜΥΝΑ ΤΟΥ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥ

Ο ξεχωριστός ρόλος και οι ευεργετικές επιδράσεις των HDL στην άμυνα του οργανισμού σε περίπτωση λοίμωξης/φλεγμονής περιγράφηκαν παραπάνω. Ωστόσο, πολλές μελέτες έδειξαν ότι όλες οι λιποπρωτεΐνες συνεισφέρουν στην άμυνα του οργανισμού κατά τη διάρκεια της λοίμωξης/φλεγμονής. Ο ρόλος γενικά των λιποπρωτεϊνών (και ορισμένες επιπρόσθετες επιδράσεις των HDL) καθώς και οι μηχανισμοί δράσης τους σε λοιμώξεις από βακτήρια ιούς και παράσιτα περιγράφονται αναλυτικά παρακάτω.

#### 6.1 Βακτήρια

Οι HDL προστατεύουν τα τρωκτικά από το σηπτικό shock σε Gram(-) βακτηριαμιά<sup>316-318</sup>. Ακόμη, τα γαλακτώματα των χυλομικρών ή συνθετικά γαλακτώματα πλούσια σε TG, όταν χορηγήθηκαν σε ζώα, 30' μετά από τις LPS βελτίωσαν την επιβίωση τους<sup>319</sup>. Επιπλέον, οι πλούσιες σε TG λιποπρωτεΐνες προστατεύουν τους αρουραίους με Gram(-) σηψαιμία από το θάνατο<sup>320</sup>. Περαιτέρω στοιχεία σχετικά με την προστατευτική επίδραση των λιποπρωτεϊνών προέρχονται από πειράματα σε υπερλιπιδαιμικά ή υπολιπιδαιμικά ζώα.

Πράγματι, υπολιπιδαιμικοί αρουραίοι έχουν μεγαλύτερη θνητότητα όταν μολυνθούν με LPS<sup>321</sup>. Η χορήγηση λιποπρωτεϊνών στα υπολιπιδαιμικά ποντίκια αύξησε τα λιπίδια του ορού σε φυσιολογικές τιμές και μείωσε τη θνητότητα. Αντίθετα, διαγονιδιακά ποντίκια που υπερεκφράζουν την apoA1 και έχουν υψηλά επίπεδα HDL και ποντίκια με έλλειψη των LDL υποδοχέων που έχουν υψηλά επίπεδα LDL είναι ανθεκτικά στην επίδραση των LPS<sup>322,323</sup>.

Μελέτες έγιναν για να εκτιμηθεί εάν η εξωγενής χορήγηση λιποπρωτεϊνών μπορεί να είναι χρήσιμη για την εξουδετέρωση των βλαβερών επιδράσεων των LPS σε ασθενείς με λοίμωξη. Αν και η δεσμευτική ικανότητα των λιποπρωτεϊνών είναι 10-1000 φορές μεγαλύτερη από τις μέγιστες συγκεντρώσεις των LPS σε ασθενείς με σηψαιμία, οι λιποπρωτεΐνες δεν ήταν ικανές να αναστείλουν τις επιδράσεις των LPS, που παρατηρούνται κατά τη

διάρκεια της λοίμωξης<sup>322</sup>. Αυτό συμβαίνει πιθανά επειδή οι LPS συνδέονται και ενεργοποιούν τα μονοκύτταρα πιο γρήγορα από τις λιποπρωτεΐνες. Ωστόσο, η αύξηση του λόγου λιποπρωτεΐνες/LPS, που παρατηρείται σε περιπτώσεις έγχυσης λιποπρωτεϊνών μπορεί να είναι ευεργετική<sup>324</sup>.

Πράγματι, οι λιποπρωτεΐνες προστατεύουν από τις βλαβερές επιδράσεις των LPS. Σε ενδοτοξιναιμία η χορήγηση ανασυνδυασμένης HDL μειώνει τα συμπτώματα της γρίπης, μεταβάλλει τη σύσταση των λευκοκυττάρων και περιορίζει την παραγωγή των κυτταροκινών<sup>251</sup>. Όταν οι LPS επωάσθηκαν σε ολικό αίμα που είχε αυξημένα τριγλυκερίδια η πλειονότητα των LPS συνδέθηκε με τις λιποπρωτεΐνες και η απάντηση του ξενιστή ήταν ηπιότερη<sup>325</sup>. Πολλοί μηχανισμοί προτάθηκαν για να εξηγήσουν την προστατευτική επίδραση των λιποπρωτεϊνών σε λοίμωξη από βακτήρια: Οι λιποπρωτεΐνες επιταχύνουν την απομάκρυνση των LPS από το πλάσμα, παρεμποδίζουν τη σύνδεση των LPS με τα μονοκύτταρα και τα μακροφάγα, καταστέλλουν την ανοσολογική ενεργοποίηση των κυττάρων της φλεγμονής, ελαττώνουν την παραγωγή κυτταροκινών, μετριάζουν την τοξικότητα των LPS, δεσμεύουν και αδρανοποιούν τις LPS. Ειδικότερα:

- Το ήπαρ είναι ο κύριος τόπος κάθαρσης των LPS που εισέρχονται στην κυκλοφορία. Τα ηπατικά μακροφάγα (κύτταρα Kupffer) προσλαμβάνουν τις LPS και στη συνέχεια ενεργοποιούνται και επάγουν την παραγωγή κυτταροκινών, οι οποίες επάγουν τη φλεγμονώδη αντίδραση. Όταν χορηγούνται σε ζώα LPS συνδεδεμένες με λιποπρωτεΐνες, οι LPS απομακρύνονται από την κυκλοφορία με διαφορετικό μηχανισμό. Η σύνδεση των LPS με τις λιποπρωτεΐνες μειώνει την πρόσληψη των LPS από τα μακροφάγα του ήπατος και ευνοεί την πρόσληψη τους από τα ηπατοκύτταρα. Έτσι, οι LPS που είναι συνδεδεμένες με τα χυλομικρά απομακρύνονται πιο γρήγορα από την κυκλοφορία και αποβάλλονται με τη χολή<sup>320,326,327</sup>. Πράγματι, όταν χορηγήθηκε θανατηφόρα δόση ενδοτοξίνης που επωάσθηκε με χυλομικρά μειώθηκε η θνησιμότητα των αρουραίων σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου (αρουραίοι που έλαβαν την ίδια δόση ενδοτοξίνης χωρίς επώαση). Επιπρόσθετα, η ίδια μελέτη έδειξε ότι τα επίπεδα του TNF ήταν χαμηλότερα σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου<sup>326</sup>.

- Οι NF-κB (Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) είναι ένα σύμπλεγμα πρωτεϊνών των ευκαρυωτικών κυττάρων που είναι

χρήσιμες για τη ρύθμιση των γονιδίων που ελέγχουν τον πολλαπλασιασμό και την επιβίωση τους. Τα χυλομικρά με τις δεσμευμένες LPS αναστέλλουν εκλεκτικά τη δραστηριότητα των NF-κB των ηπατοκυττάρων με αποτέλεσμα να μειώνεται σημαντικά η παραγωγή των πρωτεϊνών που επάγουν οι NF-κB<sup>328</sup>.

- Επιπρόσθετα, in vitro μελέτες έδειξαν ότι οι λιποπρωτεΐνες καταστέλλουν την παραγωγή των κυτταροκινών επειδή αναστέλλουν την ενεργοποίηση των περιφερικών μακροφάγων/μονοκυττάρων από τις LPS<sup>329-333</sup>. Οι λιποπρωτεΐνες επιτυγχάνουν την αποσύνδεση των LPS από την επιφάνεια των παραπάνω κυττάρων και περιορίζουν περαιτέρω την επίδραση των LPS<sup>334</sup>.

- Οι λιποπρωτεΐνες δεσμεύουν και αδρανοποιούν τις LPS. Πολλές μελέτες έδειξαν ότι οι λιποπρωτεΐνες [HDL, χυλομικρά, VLDL, LDL, Lp(a) δεσμεύουν και αδρανοποιούν τις LPS in vitro<sup>335-343</sup>. Επιπλέον, οι λιποπρωτεΐνες δεσμεύουν το LTA και την α-toxin του *Staphylococcus aureus*<sup>344,345</sup>. Μια μελέτη έδειξε ότι η πλειονότητα των LPS in vitro συνδέεται με τις HDL (HDL 60%, LDL 25%, VLDL 12%)<sup>346</sup>. Παρόμοια αποτελέσματα προέκυψαν και όσον αφορά το LTA<sup>347</sup>. Ωστόσο, κατά τη σηψαιμία όταν τα επίπεδα των HDL μειώνονται, οι LPS δεσμεύουν τις VLDL<sup>348,349</sup>. Πολλές μελέτες έδειξαν ότι η σύνδεση των LPS με τις λιποπρωτεΐνες προστατεύει τα μολυσμένα ζώα από τις βλαβερές επιδράσεις της λοίμωξης<sup>327,335,336,338</sup>.

Ωστόσο, υπάρχουν αντικρουόμενα στοιχεία σχετικά με το πιο είναι το χρήσιμο συστατικό (λιπίδια ή πρωτεΐνες) που ελαττώνει τις τοξικές επιδράσεις των LPS. Τα γαλακτώματα λιπιδίων που στερούνται πρωτεΐνες αδρανοποιούν τις LPS παρόμοια με τις λιποπρωτεΐνες που είναι πλούσιες σε TG, ένα γεγονός που υποδηλώνει ότι οι πρωτεΐνες των λιποπρωτεϊνών πιθανά δεν είναι απαραίτητες για την αδρανοποίηση των LPS<sup>319,320,338</sup>. Ακόμη, η λυσοφωσφατιδυλοχολίνη (lysophosphatidylcholine, lysoPC) είχε ευεργετικά αποτελέσματα σε ποντίκια με σηψαιμία<sup>350</sup>. Επιπλέον, άλλη μελέτη έδειξε ότι τα φωσφολιπίδια έχουν την ικανότητα να εξουδετερώνουν τις LPS, ενώ η χοληστερόλη, τα TG και οι πρωτεΐνες δεν έχουν αυτή την ικανότητα<sup>343</sup>.

Πρέπει να αναφερθεί ότι ορισμένες πρωτεΐνες που συνδέονται με τις λιποπρωτεΐνες δεσμεύουν και αδρανοποιούν τις LPS. Αυτές οι πρωτεΐνες είναι η πρωτεΐνη που δεσμεύει λιποπολυσακχαρίδες (lipopolysaccharide binding

protein, LBP), η PLTP, η apoAI, η apoE και η apoA-IV. Η LBP είναι μια θετική πρωτεΐνη οξείας φάσης, μεταφέρεται με τις λιποπρωτεΐνες (HDL, VLDL, LDL, και τα χυλομικρά, ωστόσο βρίσκεται κυρίως στις HDL και ο ρόλος της περιγράφεται παραπάνω (**κεφάλαιο 3.1**)<sup>243,246,351,352</sup>.

Η apoAI και η apoA-IV περιορίζουν την ενεργοποίηση των μακροφάγων από τις LPS<sup>333,353</sup>. Μελέτη σε ζώα έδειξε ότι όταν οι LPS επωάζονται με apoAI in vitro προκαλούν χαμηλότερο πυρετό<sup>340</sup>. Επιπλέον, διαγονιδιακά ποντίκια που υπερεκφράζουν την apoAI είναι ανθεκτικά στις επιδράσεις των LPS σε σοβαρές Gram(-) λοιμώξεις<sup>322</sup>. Επιπρόσθετα, η έκκριση των κυτταροκινών από τα λεμφοκύτταρα σε διαγονιδιακά ποντίκια με υπερέκφραση apoA-IV είναι ελαττωμένη<sup>353</sup>.

Επιπρόσθετα, η χορήγηση apoE ελαττώνει την παραγωγή των κυτταροκινών και τη θνησιμότητα εξαιτίας των LPS<sup>354</sup>. Παρόλο που ποντίκια με έλλειψη apoE έχουν υψηλά επίπεδα χοληστερόλης, είναι περισσότερο ευαίσθητα στην ενδοτοξιναιμία και τις Gram(-) λοιμώξεις<sup>355</sup>. Το γεγονός ότι τα υψηλά επίπεδα χοληστερόλης δεν μπορούν να προστατέψουν τα ποντίκια με έλλειψη apoE από τις τοξικές επιδράσεις των LPS και ότι αυτά τα ποντίκια εμφανίζουν διαταραχές της φαγοκυτταρικής δραστηριότητας των κοκκιοκυττάρων υποδεικνύουν ότι η apoE μπορεί να επιδρά στο ανοσολογικό σύστημα<sup>356</sup>. Αξιοσημείωτο είναι ότι τα μακροφάγα εκκρίνουν apoE<sup>303</sup>.

Εκτός από τις LPS των Gram(-) βακτηρίων οι λιποπρωτεΐνες εξουδετερώνουν τις τοξικές επιδράσεις των LTA των Gram(+) βακτηρίων. Πράγματι, φυσικές λιποπρωτεΐνες ή συνθετικά λιπίδια αναστέλλουν την ενεργοποίηση των μακροφάγων από το LTA διαμέσου των LBP<sup>344</sup>.

- Σε λοίμωξη/φλεγμονή τα οξειδωμένα λιπίδια αυξάνονται<sup>190</sup>. Επιπρόσθετα, μελέτες έδειξαν ότι ένα οξειδωμένο λιπίδιο το oxPAPC (Oxidized1-palmitoyl-2-arachidonoyl-sn-glycero-3-phosphocholine) αναστέλλει την ενεργοποίηση των NF-κB των μονοκυττάρων/μακροφάγων και των ενδοθηλιακών κυττάρων από τις LPS<sup>357</sup>. Επιπλέον, το oxPAPC αναστέλλει τη δέσμευση των LPS με τις LBP και τους υποδοχείς CD14<sup>358</sup> και ελαττώνει την παραγωγή κυτταροκινών (IL-8, IL-12, MCP-1, και της E-selectin). Η ικανότητα των οξειδωμένων φωσφολιπιδίων να τροποποιούν τις επιδράσεις των LPS είναι ωφέλιμη για τον προσβεβλημένο οργανισμό κατά τη διάρκεια της λοίμωξης/φλεγμονής.



Πράγματι, τα οξειδωμένα φωσφολιπίδια περιορίζουν τη φλεγμονώδη αντίδραση σε ποντίκια που έλαβαν LPS<sup>358</sup>.

## 6.2 Ιοί

Πολλές μελέτες έδειξαν ότι οι λιποπρωτεΐνες συνδέουν και εξουδετερώνουν πολλούς ιούς: ερυθράς, απλού έρπητα, λύσσας, πολιομυελίτιδας, HIV, Coxsackie, Epstein-Barr, NDV (New Castle disease virus), VSV (Vesicular stomatitis virus), JEV (Japanese encephalitis virus), SIV (Simian immunodeficiency virus), SINV (Sindbis virus), VV (Vaccinia virus), Xenotropic virus, Mengo virus<sup>359-369</sup>. Οι VLDL και οι LDL εξουδετερώνουν ορισμένους ιούς όπως τους togaviruses και τους rhabdoviruses, ενώ οι HDL έχουν ευρύτερη αλλά ηπιότερη αντιική δραστηριότητα<sup>369</sup>. Μελέτες έδειξαν ότι η εξουδετέρωση των ιών οφείλεται στα λιπίδια, κυρίως τα φωσφολιπίδια και τη χοληστερόλη<sup>369-373</sup>.

Επιπλέον, η apoAI εμποδίζει την είσοδο των ιών στα κύτταρα του ξενιστή<sup>366</sup>. Επειδή σε λοίμωξη το SAA αντικαθιστά την apoAI στις HDL, υπάρχει μεγαλύτερη ποσότητα apoAI διαθέσιμη για αυτό το σκοπό. Πράγματι, παρουσία της HDL οι ιοί παραμένουν στην επιφάνεια των κυττάρων, γεγονός που υποδηλώνει ότι συστατικά της HDL αναστέλλουν τη διείσδυση των ιών στα κύτταρα<sup>369</sup>.

Ακόμη, πολλοί λοιμογόνοι μικροοργανισμοί (ιοί και βακτήρια) χρησιμοποιούν τα γλυκοσφινγολιπίδια (glycosphingolipid GSL) των κυτταρικών μεμβρανών για να εισέλθουν στα κύτταρα<sup>374</sup>. Επειδή οι λιποπρωτεΐνες οξείας φάσης εμπλουτίζονται με GSLs<sup>150</sup> μειώνονται τα διαθέσιμα GSLs στα μικρόβια για την είσοδο τους στα κύτταρα.

Οι ιογενείς λοιμώξεις επάγουν την παραγωγή IFN, η οποία με τη σειρά της ευνοεί την παραγωγή αντιικών πρωτεϊνών. Μια από αυτές τις πρωτεΐνες είναι μια διαλυτή μορφή του υποδοχέα των LDL που εμφανίζει αντιική δράση επειδή παρεμβαίνει και αναστέλλει το σχηματισμό των ιών<sup>375</sup>. Πράγματι, ανασυνδυασμένο τμήμα του υποδοχέα των LDL αναστέλλει την ανθρώπινη λοίμωξη από ρινοϊό<sup>376</sup>. Επιπλέον, εκτός από το διαλυτό υποδοχέα των LDL, τμήμα των υποδοχέων των VLDL αναστέλλει τη λοίμωξη από ρινοϊό *in vitro*<sup>377</sup>. Μελέτες έδειξαν ότι ορισμένοι ιοί, όπως οι ρινοϊοί και ο ιός της ηπατίτιδας C χρησιμοποιούν τους LDL υποδοχείς για να εισέλθουν στα κύτταρα<sup>378,379</sup>.

Πιθανά, η αύξηση των επιπέδων των VLDL σε όλα τα είδη ζώων και των LDL σε τρωκτικά συνεισφέρει στην άμυνα του οργανισμού, επειδή οι ιοί και οι λιποπρωτεΐνες ανταγωνίζονται τους ίδιους υποδοχείς για να εισέλθουν στα κύτταρα.

### 6.3 Παράσιτα

Οι λιποπρωτεΐνες προστατεύουν από ορισμένες παρασιτικές λοιμώξεις.

Η ανθρώπινη τρυπανοσωμίαση ή νόσος του ύπνου μεταδίδεται από ένα είδος Τρυpanosome με το δήγμα της μύγας τσε τσε. Παλαιότερα βρέθηκε ένας παράγοντας στον ανθρώπινο ορό που βρίσκεται στις HDL, λύει το Τρυpanosome *brucei brucei* και ονομάζεται TLF (trypanosome lytic factor)<sup>380</sup>. Ο μηχανισμός με τον οποίο ο TLF λύει το Τρυpanosome δεν είναι γνωστός. Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι η apoL-1, που είναι συστατικό των HDL, συσχετίζεται με τον TLF<sup>381</sup>.

Η σχιστοσωμίαση είναι μια παρασιτική λοίμωξη του ήπατος που προκαλείται από τα schistosomes. Οι LDL συνδέονται στην επιφάνεια του *Schistosoma mansoni* in vitro. Τα ενεργοποιημένα μακροφάγα οξειδώνουν την LDL που βρίσκεται στην επιφάνεια των παρασίτων. Η οξείδωση των LDL διευκολύνει την ενδοκυττάρωση των παρασίτων από τα μακροφάγα διαμέσου των υποδοχέων των LDL<sup>382</sup>.

Η ελονοσία οφείλεται σε είδη του γένους Plasmodium. Τα Plasmodium και τα υπολείμματα των χυλομικρών χρησιμοποιούν τους ίδιους μηχανισμούς για να απομακρυνθούν από πλάσμα<sup>383</sup>. Τα Plasmodium είναι λιγότερο μολυσματικά σε ποντίκια με ένδεια υποδοχέων της LDL όταν τρέφονται με πολλά λιπαρά<sup>383</sup>. Αυτό το εύρημα δείχνει ότι τα υψηλά επίπεδα των λιποπρωτεϊνών ελαττώνουν τη μολυσματικότητα των Plasmodiums.

### 6.4 Μεταβολές των λιποπρωτεϊνών και άμυνα

Κατά τη διάρκεια της APR αυξάνονται οι VLDL που είναι πλούσιες σε TG και παρέχουν λιπίδια στα ενεργοποιημένα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος. Πράγματι, οι LPS αυξάνουν τη συσσώρευση των TG και της χοληστερόλης στα μακροφάγα<sup>384,385</sup>. Οι VLDL της APR είναι πλούσιες σε TG και προμηθεύουν με λιπίδια τα μακροφάγα τα οποία αποθηκεύονται ως ενδοκυττάρια λιπίδια<sup>386</sup>. Επιπρόσθετα, όπως περιγράφηκε παραπάνω

(κεφάλαιο 4), σε λοίμωξη οι HDL ελαττώνονται και η RCT καταστέλλεται ώστε να παραμείνει η χοληστερόλη στους περιφερικούς ιστούς<sup>387</sup>.

Επιπρόσθετα, η αύξηση της sPLA<sub>2</sub> ευνοεί την πρόσληψη των εστέρων χοληστερόλης από τα επινεφρίδια και επάγει τη σύνθεση στεροειδών ορμονών<sup>388</sup>. Η παρουσία της χοληστερόλης είναι απαραίτητη για την ενεργοποίηση και τον πολλαπλασιασμό των λεμφοκυττάρων<sup>389</sup>. Επιπλέον, η χοληστερόλη είναι απαραίτητη για τη σύνθεση νέων κυτταρικών μεμβρανών στις περιοχές που έχουν υποστεί βλάβη από τη λοίμωξη/φλεγμονή.



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7

### sdLDL ΣΩΜΑΤΙΔΙΑ

#### 7.1 ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΣ ΤΩΝ sdLDL ΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ

Οι LDL είναι ένας ετερογενής πληθυσμός σωματιδίων όσον αφορά το μέγεθος, την πυκνότητα και τη χημική τους σύσταση<sup>390</sup>. Αν και μπορούν να διακριθούν έως 7 LDL υποκλάσματα, μια πιο πρακτική προσέγγιση χωρίζει τον πληθυσμό των LDL σωματιδίων σε 3 κλάσματα, ανάλογα με την πυκνότητά τους: LDL-I (d=1.025 – 1.034 g/mL), LDL-II (d=1.034 – 1.044 g/mL) and LDL-III (d=1.044 – 1.060 g/mL)<sup>390</sup>. Επιπλέον, ανάλογα με το μέγεθος των LDL σωματιδίων υπάρχουν δύο LDL φαινότυποι: ο φαινότυπος A, που χαρακτηρίζεται από επικράτηση των μεγάλων LDL σωματιδίων (>255 Å) και ο φαινότυπος B, που χαρακτηρίζεται από επικράτηση των μικρών πυκνών (small dense low-density lipoprotein, sdLDL σωματιδίων) (<255 Å)<sup>391</sup>. Η επίπτωση του φαινοτύπου B είναι αυξημένη σε ενήλικες άνδρες και μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες<sup>392-394</sup>.

Επιπρόσθετα, ο φαινότυπος B συσχετίζεται με αυξημένα επίπεδα TG<sup>391</sup>. Περίπου το 50% της μεταβλητότητας του μεγέθους των LDL σωματιδίων καθορίζεται από τη συγκέντρωση των TG στον ορό<sup>395-397</sup>. Σε άτομα με υπερτριγλυκεριδαιμία αυξάνεται η μεταφορά TG από τις πλούσιες σε TG λιποπρωτεΐνες (VLDL και χυλομικρά) στις LDL (που είναι πτωχές σε TG) και η μεταφορά εστέρων χοληστερόλης από τις LDL στις πλούσιες σε TG λιποπρωτεΐνες (που είναι πτωχές σε χοληστερόλη). Η μετακίνηση αυτή των λιπιδίων γίνεται με τη δράση της CETP<sup>398-400</sup> και οδηγεί στο σχηματισμό πλούσιων σε TG και πτωχών σε χοληστερόλη LDL σωματιδίων. Τα TG αυτών των LDL στη συνέχεια υδρολύονται από την HL με τελικό αποτέλεσμα το σχηματισμό των sdLDL σωματιδίων<sup>399-402</sup>. Η δραστηριότητα της HL επηρεάζεται από τις ορμόνες του φύλου<sup>390</sup> και έτσι πιθανά εξηγείται η πολύ μικρή επίπτωση του φαινοτύπου B σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες<sup>401</sup>.

Υπάρχουν δεδομένα που υποστηρίζουν ότι υπάρχει γενετική προδιάθεση για την επικράτηση των sdLDL<sup>403-406</sup>. Άλλοι παράγοντες που πιθανά επηρεάζουν το μέγεθος των LDL σωματιδίων είναι διαιτητικοί παράγοντες<sup>407,408</sup>, το κάπνισμα<sup>409</sup>, τα επίπεδα της HDL-C<sup>410</sup>, οι πολυμορφισμοί της CETP<sup>411,412</sup>, της

HL<sup>411-413</sup>, της LPL<sup>47,412</sup> και της apoA-V<sup>414</sup>, καθώς και ο γονότυπος του LDL υποδοχέα<sup>415</sup> σε ασθενείς με οικογενή υπερχοληστερολαιμία.

## 7.2 ΑΘΗΡΟΓΟΝΟΣ ΔΥΝΑΤΟΤΗΤΑ ΤΩΝ sdLDL ΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ

Οι φυσικοχημικές ιδιότητες των sdLDL σωματιδίων τους προσδίδουν αυξημένη αθηρογόνο δυνατότητα. Τα sdLDL διεισδύουν εύκολα στον υποενδοθηλιακό χώρο του αρτηριακού τοιχώματος και συνδέονται με τις πρωτεογλυκάνες του έσω χιτώνα<sup>416,417</sup>. Επιπρόσθετα, τα sdLDL εμφανίζουν αυξημένη ευαισθησία στην οξειδωση με αποτέλεσμα την πρόσληψή τους από τα μακροφάγα και τη διευκόλυνση του σχηματισμού αφρωδών κυττάρων<sup>418</sup>. Τα οξειδωμένα LDL σωματίδια αναστέλλουν την αγγειοδιαστολή που εξαρτάται από το ενδοθήλιο και επάγουν τη δυσλειτουργία του ενδοθηλίου<sup>419,420</sup>. Επιπλέον, τα sdLDL σωματίδια δεν αναγνωρίζονται εύκολα από τον LDL υποδοχέα με αποτέλεσμα τη μεγαλύτερη παραμονή τους στην κυκλοφορία<sup>421-423</sup>. Ο φαινότυπος Β συσχετίζεται με αυξημένες συγκεντρώσεις ινωδογόνου (ενός παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου)<sup>424,425</sup>. Τέλος, υπάρχει μια αρνητική συσχέτιση μεταξύ του μεγέθους των LDL σωματιδίων και του PAI-1 (plasminogen activator inhibitor-1), ενός παράγοντα που συσχετίζεται με διαταραχή της ινωδόλυσης και την πρόωμη αθηροσκλήρωση<sup>426</sup>.

## 7.3 ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΤΗΝ ΕΜΦΑΝΙΣΗ ΤΗΣ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΗΣ ΝΟΣΟΥ

Η συσχέτιση μεταξύ των sdLDL σωματιδίων και της CVD έχει εκτιμηθεί σε αρκετές μελέτες, οι περισσότερες από τις οποίες έδειξαν ότι υπάρχει σημαντική θετική συσχέτιση<sup>399,427</sup>.

Μια πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι το μικρό μέγεθος των LDL σωματιδίων συσχετίζονταν με την εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου σε ασθενείς με μεταβολικό σύνδρομο<sup>428</sup>. Πολλές μελέτες έδειξαν ότι η επικράτηση των sdLDL σωματιδίων συσχετίζεται με μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης ΣΝ<sup>391,429-434</sup> και άλλες μελέτες ότι το μικρό μέγεθος των LDL σωματιδίων αποτελεί προγνωστικό δείκτη για την εμφάνιση ΣΝ<sup>433-435</sup>, καθώς και ότι η συγκέντρωση της sdLDL-C συσχετίζονταν με την σοβαρότητα της ΣΝ<sup>436,437</sup>. 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<sup>438</sup>.

Ακόμη, αρκετές μελέτες εκτίμησαν τη συσχέτιση του αριθμού των LDL σωματιδίων με την εμφάνιση CVD. Υπάρχουν σημαντικές ενδείξεις που υποστηρίζουν την άποψη ότι ο αριθμός των LDL σωματιδίων (που μπορεί να εκτιμηθεί από τη συγκέντρωση της apoB) πρέπει να θεωρείται σημαντικός παράγοντας κινδύνου για την εμφάνιση CVD<sup>439-444</sup>.

Επιπρόσθετα, πολλές μελέτες έδειξαν ότι υπάρχει συσχέτιση μεταξύ των sdLDL σωματιδίων και της αθηροσκληρωτικής νόσου των καρωτίδων<sup>445-447</sup>, καθώς και της περιφερικής αρτηριακής νόσου<sup>448,449</sup>. Παρά την πληθώρα των ενδείξεων για την ύπαρξη συσχέτισης μεταξύ των sdLDL σωματιδίων και του κινδύνου εμφάνισης CVD, υπάρχουν επίσης δεδομένα που δεν υποστηρίζουν αυτή την θεωρία<sup>450-452</sup>.

#### **7.4 Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΛΟΙΜΩΞΗΣ/ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ ΣΤΑ ΥΠΟΚΛΑΣΜΑΤΑ ΤΗΣ LDL**

Λίγα δεδομένα υπάρχουν στη βιβλιογραφία σχετικά με την επίδραση της λοίμωξης/φλεγμονής στα υποκλάσματα των LDL. Ασθενείς με χρόνια φλεγμονώδη νοσήματα, όπως ο συστηματικός ερυθηματώδης λύκος<sup>453</sup> και η ρευματοειδής αρθρίτιδα<sup>454</sup> έχουν περισσότερα sdLDL σωματίδια και αυτή η αύξηση πιθανά συνεισφέρει στην αυξημένη επίπτωση των καρδιαγγειακών επεισοδίων σε αυτούς τους ασθενείς.

Υπάρχουν λίγα στοιχεία για την επίδραση των λοιμώξεων στα υποκλάσματα της LDL. Μελετήθηκε η επίδραση της λοίμωξης από τον ιό HIV, καθώς και της αντιρετροϊκής θεραπείας στα υποκλάσματα των LDL. Οι μελέτες έδειξαν ότι η αύξηση των TG που προκαλεί η HIV λοίμωξη αυξάνει τα sdLDL σωματίδια<sup>455,456</sup>. Επιπρόσθετα, άλλες μελέτες έδειξαν ότι η αντιρετροϊκή θεραπεία αυξάνει τα sdLDL σωματίδια<sup>457,458</sup>. Ακόμη, άλλες μελέτες έδειξαν ότι τα sdLDL σωματίδια είναι αυξημένα σε ασθενείς με σοβαρή περιοδοντίτιδα και λοίμωξη από τον ιό Hantaan<sup>459-461</sup>.

Όπως περιγράφηκε παραπάνω σε υπερτριγλυκεριδαιμία, με τη συμμετοχή της CETP<sup>398-400</sup> και της HL<sup>399-402</sup> αυξάνεται η παραγωγή των sdLDL σωματιδίων. Τα TG του ορού αυξάνονται σε λοίμωξη/φλεγμονή (**κεφάλαιο 2**).

Ωστόσο, η επίδραση της λοίμωξης/φλεγμονής και των παραγόντων που ευοδώνουν τη φλεγμονή στη CETP και την HL δεν έχει ακόμη αποσαφηνισθεί. Μελετήθηκε η επίδραση της ανασυνδυασμένης ιντερφερόνης άλφα 2α (rIFN - alpha2a) στο μεταβολισμό των λιποπρωτεϊνών του ορού σε 39 ασθενείς με χρόνια ιογενή ηπατίτιδα C<sup>462</sup>. Η μελέτη έδειξε ότι η rIFN - alpha2a μειώνει σημαντικά την ενεργότητα και τη μάζα της CETP. Ωστόσο, η ηπατική λειτουργία βελτιώθηκε σημαντικά, γεγονός που υποδηλώνει ότι η μείωση της ενεργότητας της CETP δεν οφείλεται σε μείωση της σύνθεσης πρωτεϊνών από το ήπαρ.

Η υπερτριγλυκεριδαιμία στον άνθρωπο συσχετίζεται με αύξηση της ενεργότητας της CETP<sup>463</sup>. Αντίθετα, η ενδοτοξίνη σε ζώα, ενώ αυξάνει τα TG ελαττώνει τα επίπεδα του mRNA της CETP. Πράγματι, σε λοίμωξη/φλεγμονή παρά την υπερτριγλυκεριδαιμία οι ενδοτοξίνες και οι κυτταροκίνες (TNFα, IL-1β) ελαττώνουν τα επίπεδα του mRNA της CETP στον ορό και σε εξωηπατικούς ιστούς σε ποντίκια<sup>270</sup>. Η μείωση της CETP πιθανά χρησιμεύει για τη διατήρηση των επιπέδων της HDL-C, επειδή η HDL-C θα μειώνονταν σημαντικά με την ανταλλαγή της με τα πλεονάζοντα TG των VLDL σε ασθενείς με οξείες λοιμώξεις<sup>270</sup>. Ωστόσο, μια μελέτη έδειξε ότι σε ασθενείς με ρευματοειδή αρθρίτιδα αυξήθηκε σημαντικά η ενεργότητα της CETP<sup>464</sup>.

Επιπρόσθετα, οι LPS μειώνουν κατά 56 % την ενεργότητα της HL στο ήπαρ και κατά 45 % την ενεργότητα της HL στο πλάσμα, καθώς και τα επίπεδα του mRNA της HL στο ήπαρ σε ποντίκια<sup>274</sup>. Ακόμη, η ίδια μελέτη έδειξε ότι η IL-1 ελαττώνει τα επίπεδα του mRNA της HL στο ήπαρ<sup>274</sup>.

Η μείωση της CETP και της HL, παρά την παρουσία υπερτριγλυκεριδαιμίας σε λοίμωξη/φλεγμονή δεν μπορεί να εξηγήσει την παράλληλη αύξηση των sdLDL. Είναι απαραίτητο να γίνουν επιπρόσθετες έρευνες για να αποκαλυφθεί εάν αυξάνεται ή ελαττώνεται η CETP και η HL κατά την APR, εάν επηρεάζεται η παραγωγή, η έκκριση ή η κάθαρσή τους και με ποιους μηχανισμούς αυξάνονται τα sdLDL σωματίδια σε οξείες λοιμώξεις.



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8

### Η ΣΥΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΗ ΜΕ ΛΙΠΟΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΦΩΣΦΟΛΙΠΑΣΗ A<sub>2</sub> (Lp-PLA<sub>2</sub>)

#### 8.1. Lp-PLA<sub>2</sub> - ΓΕΝΙΚΑ

##### 8.1.1 Δομή - Λειτουργία

Η συσχετιζόμενη με λιποπρωτεΐνες φωσφολιπάση A<sub>2</sub> (Lipoprotein-Associated Phospholipase A<sub>2</sub>, Lp-PLA<sub>2</sub>) ανήκει στην υποομάδα VIII των PLA<sub>2</sub> και παλαιότερα ονομάζονταν PAF-ακετυλοϋδρολάση (Platelet-Activating Factor – Acetylhydrolase, PAF-AH)<sup>465</sup>.

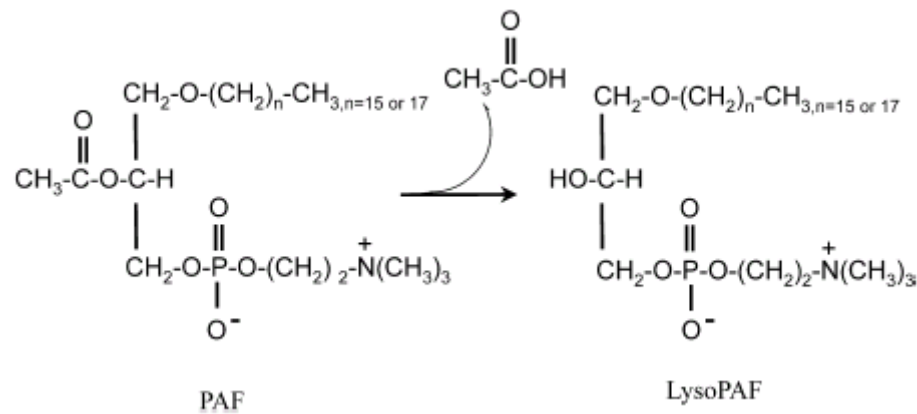
Η Lp-PLA<sub>2</sub> έχει την ιδιότητα να υδρολύει ακετυλομάδες βραχείας αλυσού (Cn<6) στη θέση sn-2 του υποστρώματος ανεξάρτητα από την παρουσία ασβεστίου (Ca<sup>+2</sup>). Συγκεκριμένα, καταλύει την υδρόλυση του ακετυλ-εστέρα στη θέση sn-2 του παράγοντα ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (platelet-activating factor, PAF) με αποτέλεσμα να μετατρέπει τον PAF στον ανενεργό μεταβολίτη lysoPAF<sup>465</sup> (**εικόνα 9**). Επιπλέον, η Lp-PLA<sub>2</sub> υδρολύει τα οξειδωμένα φωσφολιπίδια (που παράγονται κυρίως από την οξείδωση της LDL) με αποτέλεσμα τη δημιουργία λυσοφωσφατιδυλοχολίνης (lysophosphatidyl phosphatidylcholine, lysoPC) και μη εστεροποιημένων λιπαρών οξέων (oxFA)<sup>466</sup> (**εικόνα 10**). Εκτός από τη δράση της ως φωσφολιπάση A<sub>2</sub>, η Lp-PLA<sub>2</sub> έχει ακόμη δράσεις εστεράσης, φωσφολιπάσης A<sub>1</sub> και τρανσακετυλάσης<sup>467</sup>.

Η Lp-PLA<sub>2</sub> περιγράφηκε για πρώτη φορά το 1980<sup>468</sup>, αλλά η δομή του ενζύμου προσδιορίστηκε το 1995<sup>469</sup>. Το cDNA της Lp-PLA<sub>2</sub> κωδικοποιεί μία πρωτεΐνη μεγέθους 441 αμινοξέων και μοριακού βάρους 45.4 Kda. Το ενεργό κέντρο του ενζύμου αποτελείται από τρία αμινοξέα που συνδέονται μεταξύ τους με δεσμούς υδρογόνου: την Ser-273, το Asp-296 και την His-35. Η δομή του μακρομορίου της Lp-PLA<sub>2</sub> συμπληρώνεται με την παρουσία N-γλυκοζυλιώσεων, δηλαδή υδατανθρακικών αλυσίδων που συνδέονται με τις ασπαραγίνες της πολυπεπτιδικής αλυσίδας<sup>470</sup>.

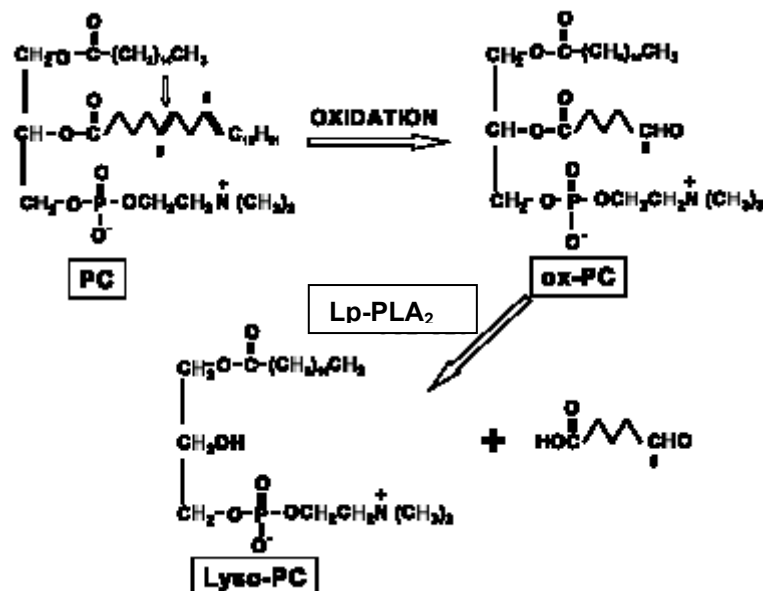
##### 8.1.2 Γονίδιο της Lp-PLA<sub>2</sub> και μεταλλάξεις

Το γονίδιο της Lp-PLA<sub>2</sub> βρίσκεται στο χρωμόσωμα 6 και είναι οργανωμένο σε 12 εξόνια<sup>469</sup>. Στον Ιαπωνικό πληθυσμό έχει περιγραφεί μια σημειακή μετάλλαξη του γονιδίου της Lp-PLA<sub>2</sub> του πλάσματος, η οποία κληρονομείται με τον

αυτοσωμικό υπολειπόμενο χαρακτήρα και οδηγεί, στην ομόζυγή της μορφή, σε πλήρη εξάλειψη της ενζυμικής ενεργότητας του πλάσματος<sup>471</sup>. Η μετάλλαξη αυτή συνίσταται σε αντικατάσταση μιας γουανίνης από θυμίνη (G→T) στη θέση 994 του ένατου εξονίου, η οποία στο επίπεδο της πρωτεΐνης μεταφράζεται σε αντικατάσταση μίας βαλίνης από φαινυλαλανίνη στη θέση 279 του ώριμου ενζύμου (Val<sup>279</sup>→Phe).



Εικόνα 9. Υδρόλυση του PAF από την Lp-PLA<sub>2</sub>



Εικόνα 10. Υδρόλυση των οξειδωμένων φωσfolιπιδίων από την Lp-PLA<sub>2</sub>

Ένας άλλος πολυμορφισμός του γονιδίου της Lp-PLA<sub>2</sub> που έχει παρατηρηθεί στους Ιάπωνες και προκαλεί πλήρη εξάλειψη της ενζυμικής ενεργότητας του

πλάσματος (Gln<sup>281</sup>→Arg) συνίσταται σε αντικατάσταση μιας αδενίνης από γουανίνη (A→G) στη θέση 1001<sup>472,473</sup>. Τέλος, στη λευκή φυλή έχουν περιγραφεί δύο άλλοι πολυμορφισμοί του γονιδίου της Lp-PLA<sub>2</sub> (Ile<sup>198</sup>→Thr, εξόνιο 7, θέση 593, T→C και Ala<sup>379</sup>→Val, εξόνιο 11, θέση 1136, T→C), οι οποίοι ενδεχόμενα επηρεάζουν τη λειτουργικότητα του ενζύμου του πλάσματος, καθώς και ένας πολυμορφισμός (Arg<sup>92</sup>→His, εξόνιο 4, θέση 275, G→A) με άγνωστη μέχρι σήμερα λειτουργική σημασία<sup>473-475</sup>.

### 8.1.3 Η κυτταρική πηγή προέλευσης και η μεταφορά της Lp-PLA<sub>2</sub> του πλάσματος

Η Lp-PLA<sub>2</sub> του πλάσματος προέρχεται κυρίως από τα κύτταρα του αιμοποιητικού συστήματος (κύτταρα της μυελοειδούς σειράς) και μάλιστα από το σύστημα των μονοκυττάρων-μακροφάγων<sup>476</sup>. Επιπρόσθετα, πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι τα ηπατοκύτταρα παράγουν σημαντικές ποσότητες Lp-PLA<sub>2</sub> μετά από κατάλληλη διέγερση, αλλά το μεγαλύτερο μέρος αυτής της ενζυμικής ενεργότητας εκκρίνεται στη χολή και όχι στο πλάσμα. Αντίθετα, τα κύτταρα Kupffer του ήπατος (τα οποία ανήκουν στο σύστημα μονοκυττάρων-μακροφάγων) μετά από ερεθισμό με ενδοτοξίνη εκκρίνουν μεγάλο ποσοστό του ενζύμου στο πλάσμα<sup>477</sup>. Δεδομένου ότι τα αιμοποιητικά κύτταρα δεν παράγουν λιποπρωτεΐνες, είναι προφανές ότι η Lp-PLA<sub>2</sub> του πλάσματος παράγεται ανεξάρτητα από τα λιποπρωτεϊνικά σωματίδια και ενσωματώνεται σε αυτά σε κάποια φάση του μεταβολισμού τους.

Πράγματι, η Lp-PLA<sub>2</sub> είναι ένα υδρόφοβο μόριο το οποίο στο πλάσμα κυκλοφορεί συνδεδεμένο με τις λιποπρωτεΐνες. Ενζυμική ενεργότητα που υδρολύει τον PAF έχει βρεθεί σε όλες τις λιποπρωτεΐνες που περιέχουν την apoB100 (VLDL, IDL και LDL), καθώς και στις λιποπρωτεΐνες υψηλής πυκνότητας (HDL)<sup>478</sup>. Η Lp-PLA<sub>2</sub> συνδέεται στο πλάσμα κυρίως με τις LDL (και μάλιστα περισσότερο με τις μικρές πυκνές αθηρογόνες LDL) και λιγότερο με τις HDL (κυρίως με το υποκλάσμα πολύ υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης 1 -VHDL1)<sup>479</sup>. Συγκεκριμένα το 70-80% της ενεργότητας της Lp-PLA<sub>2</sub> ανιχνεύεται στις LDL και το 20-30% στις HDL<sup>480</sup>. Έτσι, τόσο στις LDL όσο και στις HDL το μεγαλύτερο μέρος της ενεργότητας του ενζύμου ανιχνεύεται στα μικρά πυκνά λιποπρωτεϊνικά σωματίδια<sup>479,481</sup>. Επιπρόσθετα, πρέπει να επισημανθεί ότι δεν περιέχουν όλα τα σωματίδια Lp-PLA<sub>2</sub>.

Συγκεκριμένα 1/10000 μεγάλα και 1/100 μικρά πυκνά LDL περιέχει Lp-PLA<sub>2</sub>, δηλαδή τα περισσότερα LDL σωματίδια δεν περιέχουν Lp-PLA<sub>2</sub>. Η εκλεκτική σύνδεση της Lp-PLA<sub>2</sub> με τα sdLDL οφείλεται στην σύνδεση της Lp-PLA<sub>2</sub> με περιοχές apoB που είναι εύκολα προσπελάσιμες ή εκτεθειμένες στα sdLDL σε σύγκριση με τα μεγάλα LDL σωματίδια<sup>481</sup>.

Μια άλλη λιποπρωτεΐνη η οποία επίσης έχει υψηλά επίπεδα ενεργότητας της Lp-PLA<sub>2</sub> είναι η λιποπρωτεΐνη Lp(a)<sup>482</sup>. Ωστόσο, η ενεργότητα της Lp(a) μπορεί να συμβάλει σημαντικά στη διαμόρφωση της συνολικής ενεργότητας της Lp-PLA<sub>2</sub> του πλάσματος μόνο όταν τα επίπεδα αυτής της λιποπρωτεΐνης είναι σημαντικά αυξημένα<sup>229</sup>.

#### **8.1.4. Παράγοντες που ρυθμίζουν την έκκριση της Lp-PLA<sub>2</sub>**

Αν και η επίδραση των λιπιδίων στην παραγωγή της Lp-PLA<sub>2</sub> του πλάσματος δεν έχει καθορισθεί με σαφήνεια φαίνεται ότι ο μεταβολισμός των λιποπρωτεϊνών συμβάλλει σημαντικά στη διαμόρφωση της ενεργότητας της στο πλάσμα αφού επηρεάζει τον καταβολισμό της. Πράγματι, μια πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι ο ρυθμός καταβολισμού των λιποπρωτεϊνών που περιέχουν apoB είναι ο σημαντικότερος ρυθμιστικός παράγοντας της ενεργότητας της Lp-PLA<sub>2</sub> του πλάσματος<sup>483</sup>. Έτσι, οι ασθενείς με διαταραχές του μεταβολισμού των λιπιδίων που χαρακτηρίζονται από μείωση της κάθαρσης των LDL (οικογενής υπερχοληστερολαιμία) εμφανίζουν σημαντικά υψηλότερη ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> στο πλάσμα σε σύγκριση με υγιείς μάρτυρες<sup>484</sup>. Πραγματικά, στις περισσότερες μελέτες η ενεργότητα του ενζύμου στο πλάσμα παρουσίασε θετική συσχέτιση με τα επίπεδα της ολικής και της LDL χοληστερόλης, καθώς και με τις συγκεντρώσεις της apoB<sup>485</sup>.

Άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν τα επίπεδα της Lp-PLA<sub>2</sub> του πλάσματος είναι: α) ο βαθμός διαφοροποίησης των κυτάρων του συστήματος μονοκυττάρων-μακροφάγων<sup>486</sup>, β) ορμονικοί παράγοντες<sup>487</sup> (η προγεστερόνη και η δεξαμεθαζόνη προκαλούν σημαντική αύξηση της παραγωγής του ενζύμου από τα μακροφάγα του φθαρού, ενώ αντίθετα τα οιστρογόνα και η βιταμίνη D μειώνουν την παραγωγή του), μεταβολές που ενδεχόμενα διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην κύηση και στην έναρξη του τοκετού<sup>488</sup>, γ) οι κυτταροκίνες που ευοδώνουν τη φλεγμονή, όπως περιγράφεται παρακάτω. Επιπρόσθετα, η ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> του πλάσματος αυξάνεται προοδευτικά με την ηλικία.

Ακόμη, οι άνδρες εμφανίζουν σημαντικά υψηλότερη ενεργότητα του ενζύμου σε σύγκριση με τις γυναίκες της ίδιας ηλικιακής ομάδα έως την ηλικία των 50 περίπου ετών, οπότε και η ενεργότητα του ενζύμου εξομοιώνεται ανάμεσα στα δύο φύλα<sup>489</sup> και δ) η κληρονομικότητα<sup>483</sup>.

## 8.2 Lp-PLA<sub>2</sub> ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΑΘΗΡΟΓΕΝΕΣΗ

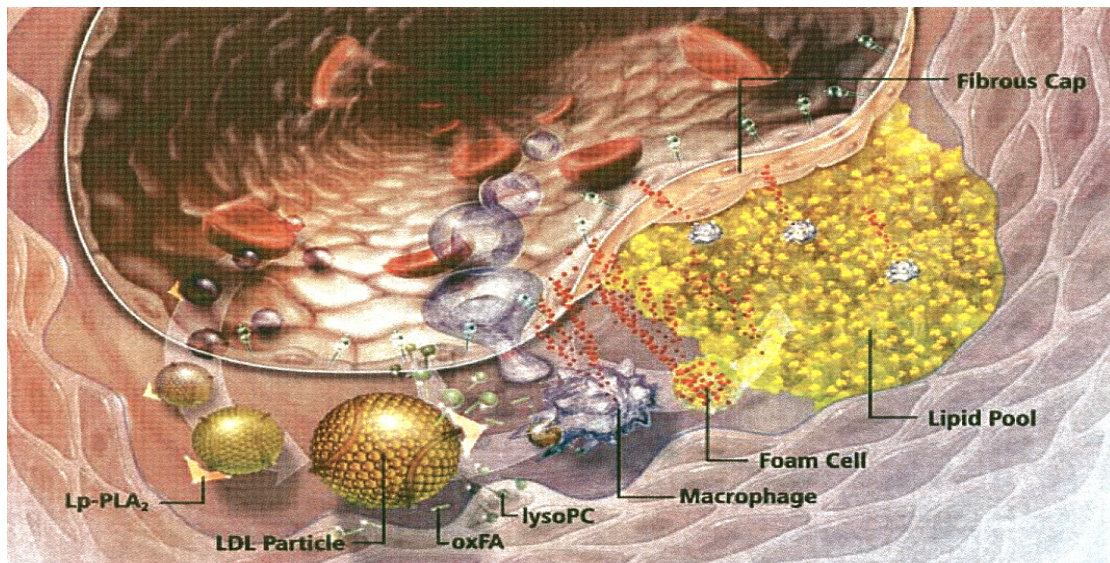
Είναι γνωστό ότι στη δημιουργία της αθηρωματικής πλάκας συμβάλλουν καθοριστικά η είσοδος των LDL (και ιδιαίτερα των μικρών πυκνών LDL) στον υπενδοθηλιακό χώρο, η οξειδωτική τους τροποποίηση και στη συνέχεια η πρόσληψή τους από τα μακροφάγα διαμέσου των υποδοχέων-εκκαθαριστών με τελικό αποτέλεσμα τη δημιουργία των αφρωδών κυττάρων. Κεντρικό ρόλο στην παραπάνω διαδικασία διαδραματίζει, η οξείδωση των LDL σωματιδίων. Η οξειδωμένη LDL (oxidized low-density lipoprotein, oxLDL), όπως είναι γνωστό, είναι βιολογικά δραστική και κυτταροτοξική<sup>490</sup>.

Για πολλά χρόνια ο ρόλος της Lp-PLA<sub>2</sub> του πλάσματος στην αθηρωματική διαδικασία δεν ήταν ξεκάθαρος. Πολλοί ερευνητές υποστήριζαν ότι η Lp-PLA<sub>2</sub> διαδραματίζει σημαντικό αντιαθηρογόνο ρόλο εξαιτίας της ικανότητάς της να καταβολίζει τα οξειδωμένα φωσφολιπίδια και να μειώνει τις αθηρογόνες δράσεις τους<sup>491</sup>. Ωστόσο, η άποψη που επικρατεί πλέον είναι ότι η Lp-PLA<sub>2</sub> του πλάσματος ευοδώνει την αθηρωματική διαδικασία (**εικόνα 11**)<sup>492</sup>.

Όπως ήδη αναφέρθηκε η Lp-PLA<sub>2</sub> υδρολύει τα οξειδωμένα φωσφολιπίδια (που παράγονται κυρίως από την οξείδωση της LDL) με αποτέλεσμα τη δημιουργία lysoPC και oxFA<sup>466,493</sup>.

Μελέτες έδειξαν ότι η lysoPC συσχετίζεται με την αντιγονικότητα της ox-LDL<sup>494</sup>, επάγει τη σύνθεση διαφόρων αυξητικών παραγόντων από τα κύτταρα του αρτηριακού τοιχώματος<sup>495</sup>, δρα ως μιτογόνος παράγοντας για τα μακροφάγα και τα λεία μυϊκά κύτταρα<sup>496</sup>, επάγει τη σύνθεση προσκολλητικών μορίων από τα ενδοθηλιακά κύτταρα<sup>497</sup> και δρα χημειοτακτικά για τα μακροφάγα<sup>498</sup>. Η άποψη ότι η lysoPC ευθύνεται σε μεγάλο βαθμό για την ικανότητα της ox-LDL να επάγει την αθηρωματική διαδικασία υποστηρίζεται έμμεσα και από την παρατήρηση ότι τα κατεξοχήν αθηρογόνα μικρά πυκνά LDL σωματίδια περιέχουν σημαντικά μεγαλύτερες συγκεντρώσεις αυτού του μορίου σε σύγκριση με τα μεγαλύτερα και λιγότερο αθηρογόνα υποκλάσματα των LDL<sup>499</sup>.

Ακόμη, η lysoPC και τα oxFA εμπλέκονται στη μετατροπή μιας σταθερής αθηρωματικής πλάκας σε ασταθή<sup>500,501</sup>. Συγκεκριμένα, η απόπτωση των μακροφάγων, που προκαλείται από την lysoPC και τα oxFA, επάγει την αύξηση του νεκρωτικού πυρήνα, τη λέπτυνση της ινώδους κάψας και τη διήθησή της από φλεγμονώδη κύτταρα, που είναι χαρακτηριστικά των ασταθών αθηρωματικών πλακών. Επιπρόσθετα, τα oxFA δρουν επίσης χημειοτακτικά για τα μονοκύτταρα/μακροφάγα<sup>500</sup>.



**Εικόνα 11.** Η δημιουργία lysoPC και οξειδωμένων μη εστεροποιημένων λιπαρών οξέων (oxFA) κατά τη δράση της Lp-PLA<sub>2</sub> στην οξειδωμένη LDL (oxLDL) επάγει το σχηματισμό της αθηρωματικής πλάκας  
oxFA: οξειδωμένα μη εστεροποιημένα λιπαρά οξέα, oxLDL:οξειδωμένη LDL

Σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες του ATP III και της AHA για την εκτίμηση του καρδιαγγειακού κινδύνου η συγκέντρωση της Lp-PLA<sub>2</sub> προτείνεται να χρησιμοποιηθεί ως ένας επιπρόσθετος δείκτης για την εκτίμηση του 10ετούς καρδιαγγειακού κινδύνου σε συνδυασμό με τους υπόλοιπους κλασσικούς παράγοντες κινδύνου<sup>502</sup>. Η παρουσία υψηλών συγκεντρώσεων Lp-PLA<sub>2</sub> (>200 ng/mL) έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση του εκτιμώμενου 10ετή κινδύνου εμφάνισης CVD, δηλαδή τη μετατόπιση ατόμων από μέτριου κινδύνου σε υψηλού κινδύνου και από υψηλού κινδύνου σε πολύ υψηλού κινδύνου, αντίστοιχα. Έτσι, ασθενείς με 2 ή περισσότερους παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση CVD [κάπνισμα, αρτηριακή υπέρταση,

χαμηλά επίπεδα HDL-C, (<40 mg/dl για τους άντρες, <50 mg/dl για τις γυναίκες) οικογενειακό ιστορικό πρώιμης καρδιαγγειακής νόσου και ηλικία ( $\geq 45$  έτη για τους άντρες,  $55 \geq$  για τις γυναίκες)] έχουν ως στόχο επίπεδα LDL-C <130 mg/dL. Όταν αυτά τα άτομα έχουν συγκέντρωση της Lp-PLA<sub>2</sub> >200 ng/mL, ο στόχος όσον αφορά την LDL-C γίνεται <100 mg/dL. Παρόμοια άτομα με CVD ή ισοδύναμο CVD (περιφερική αγγειακή νόσο, ανεύρυσμα κοιλιακής αορτής, αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, σακχαρώδης διαβήτης, χρόνια νεφρική νόσος, στένωση καρωτίδων >50%, παρουσία 2 ή περισσότερων παραγόντων κινδύνου για την εμφάνιση CVD σε συνδυασμό με επίπεδα hsCRP >2 mg/L, καθώς και κνημοβραχιόνιος δείκτης πίεσης <0,9) είχαν ως στόχο επίπεδα LDL-C <100 mg/dL. Όταν αυτά τα άτομα έχουν συγκέντρωση της Lp-PLA<sub>2</sub> >200 ng/mL, ο στόχος όσον αφορά την LDL-C γίνεται <70 mg/dL.

### 8.3 Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ Lp-PLA<sub>2</sub> ΤΩΝ HDL

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, η Lp-PLA<sub>2</sub> συνδέεται στο πλάσμα κυρίως με τις LDL και σε μικρότερο βαθμό με τις HDL. Αν και ποσοτικά η ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> των HDL σωματιδίων αποτελεί μικρό μόνο ποσοστό της συνολικής ενεργότητας του πλάσματος, μελέτες έδειξαν ότι η ικανότητα της HDL να προστατεύει την LDL από την οξειδωση<sup>503</sup> οφείλεται σε πολύ μεγάλο βαθμό στην ιδιότητά της να υδρολύει τον PAF και τα οξειδωμένα φωσφολιπίδια.

Πρέπει να σημειωθεί ότι στις HDL υπάρχουν τρία διαφορετικά ένζυμα, τα οποία έχουν την ικανότητα να υδρολύουν τον PAF και τα οξειδωμένα φωσφολιπίδια *in vitro*: η παραοξονάση 1 (PON1), η λεκιθινο-χοληστερολ-ακυλοτρανσφεράση (LCAT) και η ίδια η Lp-PLA<sub>2</sub>. Η συνεισφορά καθενός από τα τρία ένζυμα σε αυτές τις δράσεις δεν είναι γνωστή. Ωστόσο, πρόσφατα διατυπώθηκε η άποψη ότι οι HDL δεν περιέχουν Lp-PLA<sub>2</sub> και ότι η ικανότητα τους να υδρολύουν τον PAF οφείλεται αποκλειστικά στην PON1<sup>504</sup>. Η άποψη αυτή ενισχύεται από άλλη μελέτη που έδειξε ότι οι πολυμορφισμοί της PON επηρεάζουν σημαντικά την υδρολυτική ικανότητα των HDL έναντι του PAF<sup>505</sup>. Αντίθετα, άλλη μελέτη έδειξε ότι ασθενείς με τη μετάλλαξη που προκαλεί πλήρη εξάλειψη της ενεργότητας της στο πλάσμα, ενώ έχουν φυσιολογική ενεργότητα της PON δεν έχουν καμιά υδρολυτική δράση τόσο έναντι του PAF όσο και έναντι των οξειδωμένων φωσφολιπιδίων<sup>506</sup>.

Επιπρόσθετα, πειράματα σε διαγονιδιακά ποντίκια με γενετική προδιάθεση για την εμφάνιση αθηρωμάτωσης έδειξαν ότι η υπερέκφραση του γονιδίου της Lp-PLA<sub>2</sub> οδηγεί σε αύξηση της ενεργότητας του ενζύμου των HDL, η οποία συνοδεύεται από μείωση της προσκόλλησης των μακροφάγων στο αγγειακό τοίχωμα, καθώς και από σημαντική μείωση του αριθμού των αθηρωματικών βλαβών<sup>503</sup>.

Οι λόγοι για τη διαφορά στις βιολογικές δράσεις της Lp-PLA<sub>2</sub> των HDL και της Lp-PLA<sub>2</sub> των LDL δεν είναι καλά κατανοητοί. Ωστόσο, η παρουσία στα HDL σωματίδια άλλων ενζύμων (PON1 και LCAT)<sup>503</sup> που μπορεί να συμμετέχουν στο μεταβολισμό των οξειδωμένων φωσφολιπιδίων ή των προϊόντων της διάσπασης τους από την Lp-PLA<sub>2</sub>, καθώς και η δυνατότητα απομάκρυνσης των τοξικών αυτών προϊόντων από τις HDL διαμέσου της διάχυσης τους στο πλάσμα ή της σύνδεσης τους με μόρια, όπως η αλβουμίνη, μπορεί να συμβάλλουν σημαντικά στην τελική διαμόρφωση της αντιαθηρογόνου δράσης του ενζύμου των HDL σωματιδίων.

## 8.4 Lp-PLA<sub>2</sub> ΚΑΙ ΛΟΙΜΩΞΗ

### 8.4.1 Μελέτες που αφορούν τις μεταβολές της Lp-PLA<sub>2</sub> σε λοίμωξη

Λίγες μελέτες έγιναν προκειμένου να διαπιστωθεί πως μεταβάλλεται η Lp-PLA<sub>2</sub> σε οξεία λοίμωξη και όπως φαίνεται στον **πίνακα 2** προέκυψαν αντίθετα αποτελέσματα. Ειδικότερα:

1. Μελετήθηκαν 13 ασθενείς σε βαριά κατάσταση είτε από παθολογικά, είτε από χειρουργικά αίτια και συγκρίθηκαν με 10 υγιή άτομα τα οποία αποτέλεσαν την ομάδα ελέγχου. Προσδιορίστηκαν τα λιπίδια, η ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> και ο χρόνος ημίσειας ζωής του PAF ( $t_{1/2}$  PAF). Στους ασθενείς η ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> ήταν μειωμένη, ενώ ο  $t_{1/2}$  του PAF δεν διέφερε σημαντικά σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Ωστόσο, ο  $t_{1/2}$  του PAF σε 6 ασθενείς που απεβίωσαν ήταν σημαντικά αυξημένος σε σύγκριση με τους ασθενείς με καλή έκβαση, καθώς και με την ομάδα ελέγχου. Επιπλέον, βρέθηκε αρνητική συσχέτιση της ενεργότητας της Lp-PLA<sub>2</sub> και του  $t_{1/2}$  του PAF. Σύμφωνα με τους ερευνητές η μείωση της ενεργότητας της Lp-PLA<sub>2</sub> οφείλεται στη μείωση των λιπιδίων με τα οποία συνδέεται στο πλάσμα. Ο  $t_{1/2}$  του PAF δεν μεταβλήθηκε στους ασθενείς εξαιτίας της επαρκούς δραστηριότητας της ενεργότητας της Lp-PLA<sub>2</sub>. Αντίθετα, στους ασθενείς με κακή έκβαση η



ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> ήταν μειωμένη και οδήγησε σε παράταση του  $t_{1/2}$  του PAF<sup>507</sup>.

2. Η ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> και τα επίπεδα του TNFα και της IL-8 μελετήθηκαν σε ασθενείς με σηψαιμία. Βρέθηκε ότι η ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> ήταν σημαντικά αυξημένη σε 17 ασθενείς που απεβίωσαν σε σύγκριση με 13 ασθενείς που είχαν καλή έκβαση. Επιπλέον, η ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> συσχετιζόταν με τα επίπεδα των κυτταροκινών που μετρήθηκαν<sup>508</sup>.

3. Μελετήθηκαν 90 ασθενείς με σηψαιμία και αιμοφαγοκυτταρικό σύνδρομο και 59 υγιή άτομα τα οποία αποτέλεσαν την ομάδα ελέγχου. Σκοπός της μελέτης ήταν να προσδιορισθεί η ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> η οποία παράγεται από τα μακροφάγα σε ασθενείς με ανεπαρκή ενεργοποίηση των μακροφάγων. Οι ασθενείς χωρίστηκαν σε τρεις ομάδες: α) ασθενείς με αιμοφαγοκυτταρικό σύνδρομο, β) ασθενείς χωρίς αιμοφαγοκυτταρικό σύνδρομο, γ) ασθενείς με θρομβοπενία. Βρέθηκε ότι η ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> ήταν μειωμένη στους ασθενείς με σηψαιμία σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Ωστόσο, η ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> ήταν αυξημένη (χωρίς να υπάρχει σημαντικά στατιστική διαφορά) στους ασθενείς με αιμοφαγοκυτταρικό σύνδρομο. Η μελέτη έδειξε ότι η διαταραχή της λειτουργίας των μακροφάγων σε ασθενείς με αιμοφαγοκυτταρικό σύνδρομο δεν φαίνεται να επηρεάζει την ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub><sup>509</sup>.

4. Προσδιορίστηκαν τα επίπεδα των λευκοτριενίων (LTB<sub>4</sub>) και του nitrite/nitrate (NOX), καθώς και η ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> σε ασθενείς με σηψαιμία και σε υγιή άτομα τα οποία αποτέλεσαν την ομάδα ελέγχου. Βρέθηκε αύξηση της ενεργότητας της Lp-PLA<sub>2</sub>, των επιπέδων των λευκοτριενίων (LTB<sub>4</sub>) και του nitrite/nitrate (NOX) στους ασθενείς με σηψαιμία<sup>510</sup>.

5. Προσδιορίστηκε η ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> και τα επίπεδα της INFγ σε ασθενείς με λοίμωξη από HIV και σε υγιή άτομα. Στους ασθενείς, η ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> ήταν σημαντικά αυξημένη στις LDL, ενώ στις HDL δεν υπήρχε διαφορά σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Επιπρόσθετα, η ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> συσχετιζόταν με την INFγ. Οι ερευνητές διατύπωσαν την άποψη ότι η αύξηση της ενεργότητας της Lp-PLA<sub>2</sub> αποτελεί ένα μηχανισμό άμυνας του οργανισμού στις τοξικές επιδράσεις του PAF και των οξειδωμένων φωσφολιπιδίων<sup>511</sup>.

6. Μελετήθηκαν 32 ασθενείς με περιοδοντίτιδα (η οποία σύμφωνα με ορισμένους ερευνητές αποτελεί παράγοντα κινδύνου για καρδιαγγειακή νόσο), στους οποίους προσδιορίστηκε η ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> πριν και μετά από συντηρητική περιοδοντική θεραπεία 3 μηνών. Βρέθηκε ότι αυτή η θεραπεία προκάλεσε σημαντική ελάττωση της ενεργότητας της Lp-PLA<sub>2</sub><sup>512</sup>.

7. Μελετήθηκαν ασθενείς με HCV λοίμωξη και προσδιορίστηκαν τα επίπεδα του PAF και η ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> του πλάσματος. Τα επίπεδα του PAF ήταν σημαντικά αυξημένα, ενώ η ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> του πλάσματος ήταν σημαντικά μειωμένη σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Επιπλέον, μετά την κατάλληλη αντιική θεραπεία τα επίπεδα του PAF ελαττώθηκαν, ενώ η ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> του πλάσματος αυξήθηκε σημαντικά. Οι ερευνητές υποστήριξαν ότι η HCV λοίμωξη τροποποιεί την ισορροπία του συστήματος PAF/Lp-PLA<sub>2</sub>, ενώ η θεραπεία αποκαθιστά την παραπάνω ισορροπία. Αυτή η μεταβολή πιθανά συσχετίζεται με τις βλαπτικές επιδράσεις αυτής της λοίμωξης στον άνθρωπο<sup>513</sup>.

8. Προσδιορίστηκε η έκφραση του mRNA της Lp-PLA<sub>2</sub> σε ποντίκια μετά την επίδραση των LPS. Η χορήγηση LPS προκάλεσε αύξηση της έκφρασης του mRNA της Lp-PLA<sub>2</sub> στο ήπαρ. Επιπρόσθετα, αυξήθηκε η έκφραση του mRNA της Lp-PLA<sub>2</sub> σε άλλους ιστούς, όπως στους πνεύμονες, τους νεφρούς, το σπλήνα και το θύμο αδέν. Ακόμη, προσδιορίστηκε η έκφραση του mRNA της Lp-PLA<sub>2</sub> μετά τη χορήγηση ανταγωνιστών των υποδοχέων του PAF. Βρέθηκε ότι οι ανταγωνιστές των υποδοχέων του PAF προκάλεσαν μείωση κατά 50% της έκφρασης του mRNA της Lp-PLA<sub>2</sub>. Οι ερευνητές διατύπωσαν την άποψη ότι η αύξηση του mRNA της Lp-PLA<sub>2</sub> οφείλεται στην αύξηση του PAF και αποτελεί ένα σημαντικό μηχανισμό άμυνας για την αντιμετώπιση των συστηματικών και τοπικών επιπλοκών που οφείλονται στον PAF και τα οξειδωμένα φωσφολιπίδια<sup>514</sup>.

9. Προσδιορίστηκε η ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> του πλάσματος σε ποντίκια (στα οποία η Lp-PLA<sub>2</sub> είναι συνδεδεμένη κυρίως με την HDL) και τα επίπεδα του mRNA της Lp-PLA<sub>2</sub> σε ιστούς μετά τη χορήγηση LPS, IL-1 και TNF $\alpha$ . Η ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> του πλάσματος και τα επίπεδα του mRNA της Lp-PLA<sub>2</sub> σε πολλούς ιστούς (πνεύμονες, ήπαρ, σπλήνας και λεπτό έντερο) αυξήθηκαν σημαντικά<sup>515</sup>.

10. Προσδιορίστηκε η ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> σε ποντίκια μετά την πρόκληση φλεγμονώδους αντίδρασης με τη χορήγηση croton oil. Το croton oil μείωσε την ενεργότητα της HDL Lp-PLA<sub>2</sub>. Σημειώνεται ότι η μεγαλύτερη μείωση παρατηρήθηκε την 3<sup>η</sup> μέρα μετά τη πρόκληση της φλεγμονώδους αντίδρασης<sup>253</sup>.

11. Μελετήθηκε η δυνατότητα των HDL, που απομονώθηκαν από ποντίκια που μολύνθηκαν με Influenza A, να προστατεύουν τις LDL από την οξειδωση και να αποτρέπουν τη χημειοτακτική δραστηριότητα των μονοκυττάρων σε ανακαλλιέργειες ανθρώπινων κυττάρων του αρτηριακού τοιχώματος. Την 2<sup>η</sup> έως την 9<sup>η</sup> ημέρα της λοίμωξης παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση της χημειοτακτικής δραστηριότητας των μονοκυττάρων εξαιτίας της επίδρασης της LDL, που αποδόθηκε στην αδυναμία των HDL να προστατεύσουν τις LDL από την οξειδωση. Πράγματι, την 7<sup>η</sup> ημέρα της λοίμωξης παρατηρήθηκε σημαντική ελάττωση της ενεργότητας της Lp-PLA<sub>2</sub><sup>254</sup>.

## Πίνακας 2. Μελέτες για τις μεταβολές της Lp-PLA<sub>2</sub> σε λοίμωξη

1	Graham <sup>507</sup> 1994	ασθενείς με σηψαιμία	↓ Lp-PLA <sub>2</sub>
2	Endo <sup>508</sup> 1994	ασθενείς με σηψαιμία	↑ Lp-PLA <sub>2</sub> στους ασθενείς με κακή έκβαση
3	Trimoreau <sup>509</sup> 2000	ασθενείς με σηψαιμία	↓ Lp-PLA <sub>2</sub>
4	Nakae <sup>510</sup> 1996	ασθενείς με σηψαιμία	↑ Lp-PLA <sub>2</sub>
5	Khovidhunkit <sup>511</sup> 1999	ασθενείς με λοίμωξη HIV	↑ Lp-PLA <sub>2</sub> Η HDL Lp-PLA <sub>2</sub> δεν μεταβλήθηκε
6	Losche <sup>512</sup> 2005	ασθενείς με περιοδοντίτιδα	↑ Lp-PLA <sub>2</sub> παρατηρήθηκε μετά τη θεραπεία
7	Caini <sup>513</sup> 2007	ασθενείς με HCV λοίμωξη	↑ Lp-PLA <sub>2</sub>
8	Howard <sup>514</sup> 2000	χορήγηση LPS σε ποντίκια	↑ Lp-PLA <sub>2</sub>
9	Memon <sup>515</sup> 1999	χορήγηση LPS σε ποντίκια	↑ HDL Lp-PLA <sub>2</sub>
10	Van Lenten <sup>253</sup> 1995	χορήγηση croton oil σε κουνέλια	↓ HDL Lp-PLA <sub>2</sub>
11	Van Lenten <sup>254</sup> 2001	πρόκληση λοίμωξης με Influenza A	↓ HDL Lp-PLA <sub>2</sub>

## 8.4.2 Μηχανισμοί που συσχετίζονται με τις μεταβολές της Lp-PLA<sub>2</sub> σε οξεία λοίμωξη

### 8.4.2.1 Η ενεργοποίηση του συστήματος μονοπύρηνων-μακροφάγων

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω ο βαθμός διαφοροποίησης των κυττάρων του συστήματος μονοπύρηνων-μακροφάγων<sup>486</sup> συσχετίζεται με την αύξηση της παραγωγής της Lp-PLA<sub>2</sub>. Πράγματι, *in vitro* μελέτες έδειξαν ότι η διαφοροποίηση των μονοκυττάρων του περιφερικού αίματος για το σχηματισμό μακροφάγων αύξησε κατά 260 φορές την ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> στα μακροφάγα<sup>516</sup>. Επιπλέον, *in vitro* μελέτες σε καλλιέργειες ιστικών μακροφάγων, όπως τα κύτταρα Kupffer, έδειξαν ότι η ενεργοποίησή τους αυξάνει το mRNA της Lp-PLA<sub>2</sub><sup>517</sup>.

Η αύξηση της ενεργότητας της Lp-PLA<sub>2</sub> εξαιτίας της ενεργοποίησης του συστήματος μονοπύρηνων-μακροφάγων πιθανά οφείλεται στη δραστηριότητα των SP (specificity proteins). Οι SP1 και SP3 είναι πυρηνικές πρωτεΐνες που δρουν ως μεταγραφικοί ενεργοποιητές. Τα επίπεδα των SP1 και SP2 ποικίλλουν ανάλογα με το είδος των κυττάρων και το βαθμό διαφοροποίησή τους και είναι αυξημένα στα κύτταρα υψηλής διαφοροποίησης. Επιπρόσθετα, στο γονιδίωμα της Lp-PLA<sub>2</sub> υπάρχουν περιοχές (προαγωγοί) που διευκολύνουν τη μεταγραφή του. Μελέτες έδειξαν ότι στους προαγωγούς του γονιδιώματος της Lp-PLA<sub>2</sub> υπάρχουν ειδικές θέσεις για τις πυρηνικές πρωτεΐνες SP1 και SP3. Έτσι, επειδή η φλεγμονή ενεργοποιεί τη διαφοροποίηση των μονοκυττάρων του περιφερικού αίματος σε μακροφάγα, η δραστηριότητα των μεταγραφικών παραγόντων SP1 και SP3 στα ενεργοποιημένα μακροφάγα, καθώς και η ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> αυξάνονται<sup>486,518</sup>.

Ωστόσο, όπως αναφέρθηκε παραπάνω, οι μεταγραφικοί παράγοντες βρίσκονται σε όλα τα είδη των κυττάρων. Πιθανά, η φλεγμονή/λοίμωξη να επηρεάζει με ποικίλους τρόπους τα επίπεδα των μεταγραφικών παραγόντων στα διαφορετικά είδη κυττάρων, είτε πρόκειται για τα προσβεβλημένα κύτταρα, είτε για τα κύτταρα που ενεργοποιούνται από τους μηχανισμούς άμυνας του οργανισμού. Σε διαφορετικές λοιμώξεις ποικίλλουν οι ιστοί που προσβάλλονται και κινητοποιούνται διαφορετικοί και άλλοτε σε άλλο βαθμό μηχανισμοί άμυνας κατά της λοίμωξης. Ενδεχομένως αυτή η διαφορετική επίδραση των λοιμώξεων να συσχετίζεται και με ποικίλες μεταβολές στα

επίπεδα των μεταγραφικών παραγόντων και στην έκφραση των γονιδίων της Lp-PLA<sub>2</sub>.

#### **8.4.2.2 Επίδραση της κορτιζόλης**

Η κορτιζόλη έχει αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες και τα επίπεδα της αυξάνονται άμεσα σε καταστάσεις φλεγμονής/λοίμωξης. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω τα κορτικοειδή αυξάνουν την Lp-PLA<sub>2</sub><sup>487</sup>. Πιθανά η αύξηση των κορτικοειδών να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στις μεταβολές των επιπέδων της Lp-PLA<sub>2</sub> σε ασθενείς με οξεία λοίμωξη.

#### **8.4.2.3 Μεταβολές των λιποπρωτεϊνών κατά τη διάρκεια της λοίμωξης**

Όπως περιγράφηκε παραπάνω (8.1.4) ο μεταβολισμός των λιποπρωτεϊνών συμβάλλει σημαντικά στη διαμόρφωση της ενεργότητας της Lp-PLA<sub>2</sub> του πλάσματος. Επιπρόσθετα, οι οξείες λοιμώξεις επηρεάζουν τα επίπεδα των λιποπρωτεϊνών του πλάσματος. Έμμεσα λοιπόν η λοίμωξη επηρεάζει την Lp-PLA<sub>2</sub>, αφού αυτή μεταφέρεται με τις λιποπρωτεΐνες του πλάσματος.

#### **8.4.2.4 Αύξηση της παραγωγής της Lp-PLA<sub>2</sub> με την επίδραση του PAF**

Ορισμένοι ερευνητές υποστηρίζουν ότι στις οξείες λοιμώξεις η αύξηση της Lp-PLA<sub>2</sub> αποτελεί ένα σημαντικό μηχανισμό άμυνας για την αντιμετώπιση των συστηματικών και των τοπικών επιπλοκών του PAF και των οξειδωμένων φωσφολιπιδίων. Πράγματι, μελέτες έδειξαν ότι ο PAF διεγείρει την παραγωγή της Lp-PLA<sub>2</sub> σε καλλιέργειες μακροφάγων<sup>519</sup>.

#### **8.4.2.5 Επίδραση των ενδοτοξινών και των κυτταροκινών<sup>520</sup>**

Η επίδραση των ενδοτοξινών και των κυτταροκινών στην Lp-PLA<sub>2</sub>, καθώς και οι υποκείμενοι μηχανισμοί δεν έχουν διευκρινισθεί πλήρως. Οι περισσότεροι παράγοντες φλεγμονής αναστέλλουν την έκφραση του ενζύμου *in vitro* (πίνακας 3). Οι LPS έχουν δράση ενδοτοξίνης και αναστέλλουν την έκφραση της Lp-PLA<sub>2</sub> σε καλλιέργειες μονοκύτταρων κυττάρων διαφοροποιημένων σε μακροφάγα και σε καλλιέργειες ανθρώπινων λευχαιμικών κυττάρων (HL-60) στις οποίες έχει προστεθεί 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) (το οποίο διευκολύνει τη διαφοροποίησή των HL-60 σε μακροφάγα). Επιπλέον, οι LPS αναστέλλουν την έκφραση της Lp-PLA<sub>2</sub> σε κύτταρα Kupffer και σε μακροφάγα του δωδεκαδακτύλου. Αναστολή της έκφρασης της Lp-PLA<sub>2</sub> σε μακροφάγα του δωδεκαδακτύλου προκαλούν επίσης ο TNFα, η IL-1 και η IL-8. Ακόμη, η INFγ και η IL-8 αναστέλλουν την παραγωγή του ενζύμου σε καλλιέργειες μονοκυττάρων διαφοροποιημένων σε μακροφάγα. Αντίθετα, ο

PAF όπως αναφέρθηκε παραπάνω αυξάνει την παραγωγή της Lp-PLA<sub>2</sub> σε καλλιέργειες κυττάρων.

Πρέπει να αναφερθεί ότι τα αποτελέσματα *in vitro* δεν συμφωνούν με τα αποτελέσματα που προέκυψαν από πολλές μελέτες *in vivo*. Πράγματι, πολλές μελέτες *in vivo* έδειξαν ότι οι LPS και οι κυτταροκίνες αυξάνουν την Lp-PLA<sub>2</sub> (πίνακας 3).

Οι ερευνητές στην προσπάθειά τους να εξηγήσουν τα διαφορετικά αποτελέσματα μεταξύ των *in vivo* και των *in vitro* μελετών και τα αντικρουόμενα αποτελέσματα στις *in vivo* μελέτες θεωρούν ότι<sup>520</sup>:

- Πιθανά οι παράγοντες φλεγμονής (κυτταροκίνες και ενδοτοξίνες) *in vivo* αυξάνουν έμμεσα τα επίπεδα του PAF, ο οποίος αυξάνει τοπικά την Lp-PLA<sub>2</sub>, όπως έδειξαν τα πειράματα σε καλλιέργειες κυττάρων.
- Αντίθετα οι παράγοντες φλεγμονής στα αρχικά στάδια ελαττώνουν την Lp-PLA<sub>2</sub>, όπως έδειξαν άλλες μελέτες σε καλλιέργειες κυττάρων.
- Πιθανά σε μεταγενέστερα στάδια *in vivo* εξελίσσονται γεγονότα ή επιδρούν επιπρόσθετοι μηχανισμοί με αποτέλεσμα να διαφοροποιούνται τα *in vivo* με τα *in vitro* αποτελέσματα.
- Η λοίμωξη πιθανά ενεργοποιεί διαφορετικούς μηχανισμούς της φλεγμονώδους αντίδρασης και διαφορετικούς φλεγμονώδεις παράγοντες σε διαφορετικά είδη οργανισμών.

**Πίνακας 3.** Παράγοντες που συσχετίζονται με λοίμωξη/φλεγμονή και επηρεάζουν την έκφραση της Lp-PLA<sub>2</sub><sup>520</sup>

Παράγοντας	Είδος	Κύτταρα/ιστοί	Ενεργότητα Lp-PLA <sub>2</sub>	Μάζα Lp-PLA <sub>2</sub>
<i>In vitro</i>				
LPS	Άνθρωπος	Μακροφάγα 12/λου	↓	
LPS	Άνθρωπος	Μακροφάγα από διαφοροποιημένα μονοκύτταρα	↓	↓
LPS	Αρουραίος	Κύτταρα Kupffer		↓
LPS	Άνθρωπος	HL-60+TPA	↓	
IL-1α	Άνθρωπος	Μακροφάγα 12/λου	↓	
IL-1β	Άνθρωπος	Μακροφάγα 12/λου	↓	
IL-8	Άνθρωπος	Μακροφάγα 12/λου	↓	
IL-8	Άνθρωπος	Μακροφάγα από διαφοροποιημένα μονοκύτταρα	↓	
INFγ	Άνθρωπος	Μακροφάγα από διαφοροποιημένα μονοκύτταρα	↓	↓
TNFα	Άνθρωπος	Μακροφάγα 12/λου	↓	
TGF-β	Άνθρωπος	HL-60+TPA	↓	
PAF	Άνθρωπος	HepG2	↑	
PAF	Άνθρωπος	Μακροφάγα από διαφοροποιημένα μονοκύτταρα	↑	
PAF	Αρουραίος	Ηπατοκύτταρα	↑	
LysoPAF	Αρουραίος	Ηπατοκύτταρα	↓	
M-CSF	Άνθρωπος	Μακροφάγα από διαφοροποιημένα μονοκύτταρα	↑	
GM-CSF	Άνθρωπος	Μακροφάγα από διαφοροποιημένα μονοκύτταρα	↑	
προγεστίνες	Άνθρωπος	HL-60+TPA	↑	
κορτικοστεροειδή	Άνθρωπος	HL-60+TPA	↓	
κορτικοστεροειδή	Άνθρωπος	HL-60+TPA	↑	
<i>In vivo</i>				
LPS	Αρουραίοι	Πλάσμα	↑	
LPS	Αρουραίοι	πνεύμονας, ήπαρ, σπλην, κύτταρα Kupffer, χοληδόχος κύστη, θύμος, περιτοναϊκά μακροφάγα, λευκοκύτταρα	↑	↑
LPS	Ποντίκια	Πλάσμα	↑	
LPS	Ποντίκια	Ήπαρ, σπλην, πνεύμονας, λεπτό έντερο		↑
LPS	Ποντίκια	Πλάσμα	↑	
TNFα	Ποντίκια	Ήπαρ, σπλην	↑	
TNFα	Ποντίκια	Πλάσμα		↑
IL-1β	Ποντίκια	Ήπαρ, σπλην	↑	
IL-1β	Ποντίκια	Πλάσμα		↑
Οιστρογόνα	Αρουραίοι	Πλάσμα	↓	
Κορτικοειδή	Αρουραίοι	Πλάσμα	↑	
Ζυμοζάνη	Αρουραίοι	Πλάσμα	↑	
Τερεβινθέλαιο	Αρουραίοι	Πλάσμα	↑	
Croton oil	Κουνέλια	Πλάσμα	↓	

GM-CSF: macrophage colony-stimulating factor, HepG2: Human hepatocellular liver carcinoma cell line, HL-60: Human promyelocytic leukemia cells, LPS: lipopolysaccharides, IL: interleukin, INFγ: interferon γ, M-CSF: macrophage colony-stimulating factor, PAF: platelet activating factor, TGF-β: transforming growth factor b, TNFα: Tumor necrosis factor a, TPA: 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate





## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9

### ΠΑΡΑΟΞΟΝΑΣΗ (PON1)

#### 9.1 Δομή - Λειτουργία

Η παραοξονάση (PON1) είναι μία εξαρτώμενη από το ασβέστιο ( $\text{Ca}^{2+}$ ) Α-εστεράση (αρυλο-διακυλο-φωσφατάση) μοριακού βάρους 43 Kda που αποτελείται από 354 αμινοξέα<sup>521</sup>. Το μόριο της PON1 μπορεί να βρίσκεται σε δύο οξειδωτικές καταστάσεις (μία κατάσταση στην οποία όλες οι κυστεΐνες είναι ελεύθερες και μία κατάσταση στην οποία υπάρχει ένας δισουλφιδικός δεσμός Cys-42-S-Cys-284), περιέχει τρεις υδατανθρακικές αλύσους και στο N-άκρο του υπάρχει μία υδροφοβική περιοχή, με την οποία συνδέεται με την HDL<sup>522</sup>.

Η κύρια θέση σύνθεσης της PON1 είναι το ήπαρ, ενώ στον ορό η PON1 συνδέεται σχεδόν αποκλειστικά με την HDL και μάλιστα με το υποκλάσμα εκείνο της HDL που επίσης περιέχει apoA1 και apoJ (clusterin)<sup>523-525</sup>. Η PON1 υδρολύει και αδρανοποιεί οργανοφωσφορικές ενώσεις, όπως το παραοxon (που αποτελεί το δραστικό μεταβολίτη του parathion). Τα οργανοφωσφορικά χρησιμοποιούνται ως εντομοκτόνα, αλλά και ως πολεμικά αέρια και αποτελούν ισχυρά δηλητήρια για τον άνθρωπο και τα ζώα. Επομένως, η PON1 προστατεύει από τη δηλητηρίαση από οργανοφωσφορικά<sup>526</sup>. Αντίθετα από τα θηλαστικά, τα ψάρια, τα πουλιά και τα έντομα δεν έχουν PON1 και έτσι αποτελούν εκλεκτικό στόχο των οργανοφωσφορικών εντομοκτόνων.

#### 9.1.1 Αντιοξειδωτικές ιδιότητες της PON1

Μετά την ανακάλυψη του ρόλου της PON1 στην προστασία από τα οργανοφωσφορικά, η έρευνα στράφηκε προς την κατεύθυνση της εύρεσης της φυσιολογικής λειτουργίας της PON1 στον οργανισμό και της ανακάλυψης των «φυσιολογικών» της υποστρωμάτων. Έτσι, διαπιστώθηκε ότι η PON1 μπορεί να υδρολύει οξειδωμένα φωσφολιπίδια και οξειδωμένους εστέρες χοληστερόλης<sup>527,528</sup>. Η αντιοξειδωτική αυτή δράση έχει ως αποτέλεσμα η PON1 να προστατεύει την LDL<sup>529</sup> αλλά και την ίδια την HDL<sup>530</sup> από την οξείδωση και συνεπώς να συνεισφέρει σημαντικά στις αθηροπροστατευτικές ιδιότητες της HDL<sup>531</sup>. Επιπρόσθετα, έχει προταθεί ότι η PON1 έχει και ιδιότητες ακετυλοϋδρολάσης<sup>504</sup>, αλλά η σχετική της συνεισφορά στην

παρατηρούμενη ενεργότητα της ακετυλοϋδρολάσης της HDL παραμένει άγνωστη και αποτελεί αντικείμενο διαφωνίας. Τέλος, η PON1 μπορεί να διασπά το phenylacetate (ιδιότητα αρυλεστεράσης) και το υπεροξειδίο του υδρογόνου (ιδιότητα υπεροξειδάσης)<sup>532</sup>.

### 9.1.2 Γονίδιο και γενετικοί πολυμορφισμοί της PON1

Το γονίδιο που κωδικοποιεί την PON1 στον άνθρωπο βρίσκεται στο μακρό σκέλος του χρωμοσώματος 7 (μεταξύ q21.3 και q22.1) και ανήκει στην οικογένεια των γονιδίων της παραοξινάσης, η οποία έχει άλλα δύο γνωστά μέλη: την PON2 και την PON3<sup>533</sup>.

Υπάρχουν δύο κύριοι γενετικοί πολυμορφισμοί της PON1: ένας στη θέση 192 και ένας στη θέση 55 του ενζύμου. Στη θέση 192 μπορεί να υπάρχει γλουταμίνη (ισομορφή Q ή A: 70% συχνότητα στη λευκή φυλή) ή να υπάρχει αργινίνη (ισομορφή R ή B: 30% συχνότητα στη λευκή φυλή). Έτσι, προκύπτουν οι εξής πιθανοί γονότυποι (με σειρά παρατηρούμενης συχνότητας): QQ, QR, RR<sup>534</sup>. Αυτές οι ισομορφές διαφέρουν μεταξύ τους ως προς την ικανότητά τους να υδρολύουν το παραοξον: η ισομορφή R είναι πιο αποτελεσματική (ταχύτερη) στη διάσπαση του παραοξον από την ισομορφή Q. Στη θέση 55 του μορίου της PON1 μπορεί να υπάρχει μεθειονίνη (ισομορφή M) ή λευκίνη (ισομορφή L) και επομένως υπάρχουν τρεις διαφορετικοί γονότυποι: LL, LM, MM. Η ισομορφή L είναι πιο συχνή από την ισομορφή M στη λευκή φυλή και συνοδεύεται από μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα όσον αφορά την υδρόλυση του παραοξον<sup>535</sup>.

Τέλος, ο πολυμορφισμός M55L της PON1 επηρεάζει την ενεργότητα της PON1 όσον αφορά το phenylacetate (ενεργότητα αρυλεστεράσης) [L>M], αλλά και τη συγκέντρωση του ενζύμου<sup>535,536</sup>. Για το λόγο αυτό και επειδή η ενεργότητα ως προς το phenylacetate δεν επηρεάζεται από τον πολυμορφισμό Q192R, η μέτρηση της ενεργότητας της αρυλεστεράσης θεωρείται ως ένας αξιόπιστος δείκτης της μάζας του ενζύμου.

Επιπρόσθετα, έχουν περιγραφεί αρκετοί πολυμορφισμοί που αφορούν την περιοχή του υποκινητή (promoter region) του γονιδίου της PON1<sup>537-539</sup>. Τέτοιοι πολυμορφισμοί έχουν περιγραφεί στις θέσεις -107/-108, -126, -160/-162, -824/-832 και -907/-909. Από αυτούς τους πολυμορφισμούς, οι -108, -162 και -

909 φαίνεται ότι επηρεάζουν την έκφραση του γονιδίου και επομένως και τα επίπεδα της PON1<sup>539</sup>.

## 9.2 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗΝ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑ ΤΗΣ PON1

1) Η ηλικία επηρεάζει την ενεργότητα της PON1, αφού οι υπερήλικες και οι γυναίκες μετά την εμμηνόπαυση έχουν ελαττωμένη ενεργότητα της PON1<sup>540,541</sup>.

2) Σημαντικές διαφορές στην ενεργότητα της PON1 έχουν παρατηρηθεί ανάμεσα σε διαφορετικούς πληθυσμούς. Πράγματι, οι μη-Ευρωπαϊκής καταγωγής πληθυσμοί έχουν αυξημένη ενεργότητα της PON1 σε σύγκριση με τους Ευρωπαίους<sup>521,542</sup>. Το γεγονός αυτό οφείλεται τόσο στη συχνότητα του πολυμορφισμού στη θέση 192 που παρατηρείται συχνότερα στους Ασιάτες και τους Αφρικανούς, όσο και σε διαιτητικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες<sup>521</sup>.

3) Σε άτομα με το ίδιο γενετικό υπόστρωμα η ενεργότητα της PON1 ποικίλλει σημαντικά (μέχρι και 40πλάσια διακύμανση της ενεργότητας), ένα γεγονός που αποδίδεται σε περιβαλλοντικούς παράγοντες<sup>538,543</sup>. Παράγοντες που μειώνουν την ενεργότητα της PON1 είναι η πλούσια σε χοληστερόλη δίαιτα<sup>544</sup>, το μαγειρικό λίπος<sup>545</sup>, η έκθεση σε οργανοφωσφορικά (όπως στους στρατιώτες στον πόλεμο του Περσικού κόλπου)<sup>546,547</sup> και το κάπνισμα<sup>548,549</sup>. Αντίθετα, η μέτρια κατανάλωση αλκοόλ φαίνεται ότι αυξάνει την ενεργότητα της PON1<sup>550</sup>. Τέλος, οι πολυφαινόλες (βρίσκονται στο κρασί, το τσάι και τους χυμούς των φρούτων) αυξάνουν την ενεργότητα της PON1<sup>551</sup>.

4) Η ενεργότητα της PON1 του ορού συμβαδίζει με τις συγκεντρώσεις της HDL χοληστερόλης και της apoA1. Ωστόσο, η συσχέτιση αυτή δεν είναι πολύ ισχυρή, δεδομένου ότι η PON1 βρίσκεται σε υποκλάσματα και όχι στο σύνολο των HDL<sup>552</sup>. Σε καταστάσεις έλλειψης της HDL (π.χ νόσος της Ταγγέρης), η ενεργότητα της PON1 είναι σημαντικά ελαττωμένη<sup>553</sup>, αλλά αυτό το εύρημα δεν παρατηρείται πάντα στον ίδιο βαθμό<sup>554</sup>. Επιπρόσθετα, η οξειδωση της LDL<sup>555</sup> και η γλυκοζυλίωση της HDL<sup>556</sup> ελαττώνουν την ενεργότητα της PON1.

5) Από τα υπολιπιδαιμικά φάρμακα<sup>557</sup> οι φιβράτες αυξάνουν την ενεργότητα της PON1<sup>558,559</sup>, αν και αυτή η αύξηση δεν επιβεβαιώθηκε από άλλες μελέτες<sup>560</sup>. Επιπρόσθετα, υπάρχουν ενδείξεις ότι οι στατίνες αυξάνουν την ενεργότητα της PON1<sup>561</sup> επάγοντας τη γονιδιακή της έκφραση<sup>562</sup>. Επίσης, η

χορήγηση λεπτίνης μειώνει την ενεργότητα της PON1<sup>563</sup>. Επιπρόσθετα, αν και οι απόψεις δίστανται, φαίνεται ότι η αντιοξειδωτική δράση της PON1 είναι μάλλον ανεξάρτητη από την παρουσία αντιοξειδωτικών βιταμινών, όπως η βιταμίνες C και E<sup>555,564,565</sup>.

6) Οι μελέτες που έδειξαν ότι η φλεγμονή/λοίμωξη μεταβάλλουν τα επίπεδα της PON1 περιγράφονται παρακάτω.

### 9.3 PON1 ΚΑΙ ΝΟΣΗΜΑΤΑ

*PON1 και στεφανιαία νόσος:* Η PON1 έχει σημαντική αθηροπροστατευτική δράση εξαιτίας των αντιοξειδωτικών της ιδιοτήτων (**κεφάλαιο 9.1.2**). Σε αυτό το πλαίσιο, έχει μελετηθεί η επίδραση των γενετικών πολυμορφισμών αλλά και της ενεργότητας της PON1 στον ορό στην εμφάνιση της στεφανιαίας νόσου<sup>521,566</sup>. Υπάρχουν ενδείξεις ότι η χαμηλή ενεργότητα της PON1 στον ορό είναι παράγοντας κινδύνου για στεφανιαία νόσο, ανεξάρτητα από τους γενετικούς της πολυμορφισμούς<sup>567,568</sup>. Μελέτες έδειξαν ότι η ενεργότητα της PON1 σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο είναι σημαντικά μειωμένη σε σύγκριση με υγιή άτομα<sup>567,569,570</sup>. Μάλιστα, η ελαττωμένη ενεργότητα της PON1 σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο προϋπήρχε του καρδιακού επεισοδίου, αφού βρέθηκε μειωμένη από πρώτη ώρα της εμφάνισης των στηθαγχικών συμπτωμάτων<sup>521,566</sup>. Η Caerphilly Prospective Study έδειξε ότι η PON1 είναι ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για την εμφάνιση καρδιαγγειακών συμβαμάτων, κυρίως σε άτομα υψηλού κινδύνου<sup>571</sup>. Επιπλέον, βρέθηκε ότι η χαμηλή ενεργότητα (και όχι η μάζα) της PON1 στον ορό είναι ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για στεφανιαία συμβάματα σε υψηλού κινδύνου ασθενείς<sup>571</sup>. Η σημασία των πολυμορφισμών της PON1 στην εμφάνιση της καρδιαγγειακής νόσου μελετήθηκε σε πρόσφατη μετα-ανάλυση στην οποία συμμετείχαν 11212 ασθενείς με στεφανιαία νόσο και 12786 υγιή άτομα (ομάδα ελέγχου). Με βάση τα αποτελέσματα ο πολυμορφισμός R192 είναι ασθενής παράγοντας κινδύνου για στεφανιαία νόσο (σχετικός κίνδυνος 1.12)<sup>572</sup>.

Επιπρόσθετα, η ενεργότητα της PON1 είναι μειωμένη στους ασθενείς που υποβάλλονται σε αιμοκάθαρση σε σύγκριση με τους φυσιολογικούς μάρτυρες στο σύνολο σχεδόν των μελετών<sup>573,574</sup>. Υπάρχουν αντικρουόμενα αποτελέσματα για τη συσχέτιση μεταξύ της PON1 και της νόσου του

Parkinson<sup>575,576</sup>. Πρόσφατα, η συνύπαρξη του R και του T-107 πολυμορφισμού της PON1 συσχετίστηκε με την εμφάνιση άνοιας, ειδικά σε ασθενείς που δεν έχουν το αλληλίο apoE4<sup>576</sup>, αλλά και με την εμφάνιση και τη βαρύτητα της αγχώδους νεύρωσης<sup>577</sup>.

Η ενεργότητα της PON1 είναι μειωμένη, ανεξάρτητα από τους γενετικούς της πολυμορφισμούς, σε ασθενείς με υπερχοληστερολαιμία<sup>540</sup>, με σακχαρώδη διαβήτη<sup>578</sup>, καθώς και σε γυναίκες με σοβαρή προεκλαμψία<sup>579</sup>. Επιπρόσθετα, η ενεργότητα της PON1 είναι μειωμένη σε ασθενείς με μεταβολικό σύνδρομο<sup>580</sup> και σε ασθενείς με υπερθυρεοειδισμό<sup>581</sup>. Η θεραπεία του υπερθυρεοειδισμού έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της ενεργότητας της PON1.

## 9.4 PON1 ΚΑΙ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ

### 9.4.1 Μελέτες των μεταβολών της PON1 σε λοιμώξεις

Πολλές μελέτες έγιναν προκειμένου να διαπιστωθούν ενδεχόμενες μεταβολές της PON1 σε ασθενείς με λοιμώξεις. Όπως φαίνεται στον **πίνακα 4** και αναλυτικά παρακάτω, οι μελέτες έδειξαν ότι σε λοιμώξεις η δραστηριότητα της PON1 ελαττώνεται.

**Πίνακας 4.** Μελέτες για τις μεταβολές της PON σε λοιμώξεις

1	Ferre <sup>582</sup> 2002	Ηπατίτιδα C	↓ PON1 ενεργότητα (PON)
2	Ali <sup>583</sup> 2009	Ηπατίτιδα C	↓ PON1 ενεργότητα (PON /ARYL)
3	Schulpis <sup>584</sup> 2008	Ηπατίτιδα B	↓ PON1 ενεργότητα (PON/ ARYL)
4	Kilic <sup>585</sup> 2005	Ηπατίτιδα B	↓ PON1 ενεργότητα (PON /ARYL)
5	Selek <sup>586</sup> 2008	πνευμονική φυματίωση	↓ PON1 ενεργότητα (PON/ ARYL)
6	Parra <sup>587</sup> 2007	HIV	↓ PON1 ενεργότητα Όμως, ↑ PON συγκέντρωση
7	Aslan <sup>588</sup> 2008	λοίμωξη από H. pylori	↓ PON1 ενεργότητα (PON/ ARYL)
8	Van Lenten <sup>254</sup> 2001	Influenza A σε ποντίκια	↓ PON1 ενεργότητα (PON)
9	Farid <sup>589</sup> 2008	Nippostrongylus brasiliensis	↓ PON1 ενεργότητα (PON /ARYL)

ARYL: arylesterase, PON: paraoxonase

1. Μελετήθηκαν ασθενείς με κίρρωση του ήπατος και ασθενείς με HCV λοίμωξη και προσδιορίστηκε η ενεργότητα της PON1. Βρέθηκε σημαντική μείωση της ενεργότητας της PON1 στους ασθενείς με κίρρωση και στους ασθενείς με HCV λοίμωξη. Επιπλέον, η ελαττωμένη ενεργότητα της PON1 συσχετιζόταν με το βαθμό της ηπατικής δυσλειτουργίας και δεν συσχετιζόταν με τους πολυμορφισμούς της PON1. Ωστόσο, εάν και η μελέτη αφορά μια χρόνια λοίμωξη οι ερευνητές εστίασαν το ενδιαφέρον τους στην επίδραση των πολυμορφισμών της PON1 και της ηπατικής δυσλειτουργίας στην ενεργότητα της PON1<sup>582</sup>.
2. Σε άλλη μελέτη βρέθηκε σημαντική μείωση της ενεργότητας της PON1 σε ασθενείς με κίρρωση του ήπατος και σε ασθενείς με HCV λοίμωξη. Επιπρόσθετα, η μελέτη απέδειξε ότι η ενεργότητα της PON1 σε συνδυασμό με τα επίπεδα της AST του ορού μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παρακολούθηση των ασθενών με HCV λοίμωξη<sup>583</sup>.
3. Επιπρόσθετα, βρέθηκε ελαττωμένη η ενεργότητα της PON 1 (paraoxonase, arylesterase) σε νεογνά μητέρων που έπασχαν από χρόνια HBV λοίμωξη<sup>584</sup>.
4. Μελετήθηκαν ασθενείς με HBV λοίμωξη και προσδιορίστηκε η ενεργότητα της PON1. Σε αυτή τη μελέτη, η σημαντική μείωση της ενεργότητας της PON1 αποδόθηκε στην ηπατική δυσλειτουργία<sup>585</sup>.
5. Σε άλλη μελέτη προσδιορίστηκε η ενεργότητα της PON1 (paraoxonase και arylesterase) σε ασθενείς με ενεργό φυματίωση. Η μελέτη έδειξε ότι η ενεργότητα της PON1 ήταν μειωμένη<sup>586</sup>.
6. Σε ασθενείς με λοίμωξη από τον ιό HIV παρατηρήθηκε σημαντική μείωση της ενεργότητας της PON1 και αύξηση της συγκέντρωσης της PON1. Η διαπίστωση αυτή αρχικά φαίνεται αντιφατική. Ωστόσο, οι ερευνητές αποδίδουν την αύξηση της συγκέντρωσης της PON1 στην αύξηση της ηπατικής παραγωγής της PON ως απάντηση στο οξειδωτικό stress<sup>587</sup>.
7. Παλαιότερες μελέτες έδειξαν ότι η λοίμωξη από *H. pylori* συσχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο αθηρωμάτωσης. Σε μια μελέτη παρατηρήθηκε σημαντική μείωση της ενεργότητας της PON1 (paraoxonase και arylesterase) σε ασθενείς με λοίμωξη από *H. pylori*<sup>588</sup>.
8. Η πρόκληση λοίμωξης από Influenza A σε ποντίκια προκάλεσε μείωση της PON1<sup>254</sup>.

9. Μελετήθηκε επίσης η επίδραση παρασιτικής λοίμωξης (συγκεκριμένα από νηματώδεις σκώληκες *Nippostrongylus brasiliensis*) σε αρουραίους στην PON1 και βρέθηκε σημαντική μείωση στην ενεργότητα της PON1 (paraoxonase και arylesterase). Επιπρόσθετα, διαπιστώθηκε σημαντική αύξηση των επιπέδων των κυτταροκινών (IL-1, IL-6 και TNFα)<sup>589</sup>.

#### **9.4.2 Μηχανισμοί που συσχετίζονται με τις μεταβολές της PON1 σε ασθενείς με λοιμώξεις**

##### **9.4.2.1 Οι μεταβολές στη σύνθεση και την έκκριση των HDL και apoA1**

Κατά τη διάρκεια της λοίμωξης μεταβάλλεται η σύνθεση ή / και η έκκριση των HDL σωματιδίων και της apoA1 (**κεφάλαιο 4**). Επιπρόσθετα, η PON1 συνδέεται σχεδόν αποκλειστικά με την HDL και μάλιστα με το υποκλάσμα εκείνο της HDL που περιέχει apoA1. Επομένως, οι μεταβολές της σύνθεσης ή/ και έκκρισης των HDL και της ApoA1 συνεισφέρουν στην ελάττωση της ενεργότητας της PON1 σε ασθενείς με οξείες λοιμώξεις.

##### **9.4.2.2 Επίδραση των ενδοτοξινών και των κυτταροκινών**

Αξιοσημείωτη είναι **η μελέτη του Feingold και συνεργατών του**<sup>590</sup>, οι οποίοι εκτίμησαν την επίδραση των LPS και των κυτταροκινών στην ενεργότητα της PON του ορού και στην έκφραση του mRNA της PON στο ήπαρ σε ποντίκια. Επιπρόσθετα, οι συγγραφείς μελέτησαν την επίδραση των κυτταροκινών στην έκφραση του mRNA της PON σε καλλιέργειες ανθρώπινων κυττάρων ηπατώματος (HepG2).

##### *Επίδραση των LPS και των κυτταροκινών στην ενεργότητα της PON του ορού*

Η μελέτη αυτή έδειξε ότι η χορήγηση μικρών δόσεων LPS στα ποντίκια προκάλεσε μετά από 24h σημαντική μείωση της ενεργότητας της PON1 του ορού. Ακόμη, αυτή η μείωση της ενεργότητας της PON1 (κατά 62%) ήταν πολύ μεγαλύτερη από τη μικρή ελάττωση της HDL-C (κατά 17%). Η διαπίστωση αυτή υποδηλώνει ότι στην ελάττωση της PON1 σε οξεία λοίμωξη εμπλέκονται και άλλοι μηχανισμοί εκτός από τη μεταβολή της σύνθεσης και έκκρισης των HDL σωματιδίων. Επιπρόσθετα, η χορήγηση κυτταροκινών (TNF και IL-1) στα ποντίκια μείωσε σημαντικά την ενεργότητα της PON του ορού.

*Επίδραση των LPS και των κυτταροκινών στα επίπεδα του mRNA της PON στο ήπαρ*

Η μελέτη έδειξε ότι η χορήγηση LPS μείωσε σημαντικά (κατά 80%) τα επίπεδα του mRNA της PON στο ήπαρ. Τα επίπεδα του mRNA της PON μειώθηκαν γρήγορα (σε 4h) και διατηρήθηκαν χαμηλά για περισσότερο από 48h μετά από τη χορήγηση μιας μόνο δόσης LPS. Ο TNF και η IL-1 ελαττώνουν επίσης τα επίπεδα του mRNA της PON στο ήπαρ. Ωστόσο, η ελάττωση της ενεργότητας της PON και των επιπέδων του mRNA της PON που προκαλούν οι κυτταροκίνες είναι μικρότερη συγκριτικά με τις αντίστοιχες μεταβολές που προκαλεί η LPS. Επομένως, εκτός από τον TNF και την IL-1 υπάρχουν και άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν τη μείωση της PON από τις LPS.

*Επίδραση των κυτταροκινών στα επίπεδα του mRNA της PON του ήπατος σε καλλιέργειες HepG2 κυττάρων*

Επιπλέον, προσδιορίσθηκε η επίδραση του TNF και της IL-1 στη σύνθεση της PON1, σε καλλιέργειες HepG2 κυττάρων και βρέθηκε επίσης σημαντική μείωση του mRNA της PON. Σύμφωνα με τα παραπάνω η ελάττωση της ενεργότητας της PON του ορού οφείλεται στην ελάττωση της σύνθεσης και της έκκρισης της PON από το ήπαρ ως αποτέλεσμα της μείωσης των ηπατικών επιπέδων του mRNA της PON. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι η μείωση των επιπέδων του mRNA της PON στο ήπαρ μετά τη χορήγηση LPS είναι μεγαλύτερη σε σύγκριση με την ελάττωση της ενεργότητας της PON στον ορό. Η πιο πιθανή εξήγηση για αυτή τη διαφορά είναι ότι ο χρόνος ημίσειας ζωής της PON στη κυκλοφορία είναι σχετικά μεγαλύτερος και έτσι οι απότομες αλλαγές στην παραγωγή της PON έχουν μικρή σχετικά επίδραση στην ενεργότητα της PON του ορού.

Οι **Kumon και συνεργάτες του**<sup>591</sup> μελέτησαν την επίδραση των κυτταροκινών (TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6) στη ρύθμιση της μεταγραφής του γονιδίου της PON1 και στην έκφραση του mRNA της PON σε καλλιέργειες HepG2 κυττάρων. Βρέθηκε ότι ο TNF $\alpha$  και η IL-1 $\beta$  ελαττώνουν και η IL-6 επάγει τη μεταγραφή του γονιδίου της PON1 και την έκφραση του mRNA της PON. Η επίδραση του TNF $\alpha$  και της IL-1 $\beta$  στην PON συμφωνεί με προηγούμενες μελέτες<sup>590,592</sup>. Ωστόσο, η επίδραση της IL-6 στην PON1 είναι αμφιλεγόμενη.

Πράγματι, οι **Van Lenten**<sup>593</sup> και συνεργάτες έδειξαν ότι η IL-6 ελαττώνει την έκφραση του mRNA της PON σε καλλιέργειες HepG2 κυττάρων. Τα



διαφορετικά αποτελέσματα όσον αφορά την IL-6 στις παραπάνω μελέτες πιθανά οφείλονται στις διαφορετικές δόσεις της IL-6 που χρησιμοποιήθηκαν.

#### **9.4.2.3 Η επίδραση της oxLDL στην PON**

Οι **Van Lenten**<sup>593</sup> και συνεργάτες έδειξαν ότι τα οξειδωμένα φωσφολιπίδια τα οποία βρίσκονται στην οξειδωμένη LDL (oxidized low-density lipoprotein, oxLDL), όταν επωάζονται σε καλλιέργειες HepG2 κυττάρων ελαττώνουν την έκφραση των γονιδίων της PON1 και ευοδώνουν την έκφραση των γονιδίων της ApoJ με την επίδραση της IL-6 (τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης συμφωνούν με τα αποτελέσματα άλλων μελετών που έδειξαν ότι η επίδραση των οξειδωμένων φωσφολιπιδίων γίνεται διαμέσου των κυτταροκινών<sup>594,595</sup>).

Σύμφωνα με τον **Aviram**<sup>555</sup> τα οξειδωμένα φωσφολιπίδια αλληλεπιδρούν με την ελεύθερη σουλφιδική ομάδα στη θέση-284 της PON1 και αυτή η αλληλεπίδραση έχει ως αποτέλεσμα την αδρανοποίηση της PON1.

Ακόμη, οι Aviram και συνεργάτες έδειξαν ότι η ox-LDL που παράγεται με την επώαση της LDL με ιόντα χαλκού ή με AAPH (amidinopropane hydrochloride) που παράγει ελεύθερες ρίζες έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της ενεργότητας της arylesterase της PON κατά 47% και 58% αντίστοιχα. Οι πιθανοί μηχανισμοί με τους οποίους η oxLDL επιδρά στην PON είναι: α) η δέσμευση της PON από τα ιόντα χαλκού, β) η επίδραση των ελεύθερων ριζών στην PON1 και γ) η επίδραση των υπεροξειδίων των λιποπρωτεϊνών στην PON1. Παράλληλα με την αδρανοποίηση της PON1 από τα οξειδωμένα φωσφολιπίδια, στις λοιμώξεις αυξάνονται οι ελεύθερες ρίζες και κατά συνέπεια αυξάνεται η αλληλεπίδραση τους με την ελεύθερη σουλφιδική ομάδα στη θέση-284 της PON1. Το αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης των ελεύθερων ριζών και της PON1 είναι η αδρανοποίηση του ενζύμου και η μείωση της ενεργότητας του στον ορό.

#### **9.4.3 Η αλληλεπίδραση της PON με μικρόβια και αντιβιοτικά**

Η *Pseudomonas aeruginosa* διαθέτει ένα ενδοκυττάριο σύστημα επικοινωνίας για τη ρύθμιση της έκφρασης του γονιδίου της. Ο αγγελιοφόρος του ενδοκυττάρου συστήματος επικοινωνίας της *Pseudomonas aeruginosa* είναι το μόριο 3OC12-HSL. Το γεγονός ότι η PON καταβολίζει το μόριο 3OC12-HSL υποδηλώνει ότι η PON μπορεί να ρυθμίσει την έκφραση του γονιδίου της *Pseudomonas aeruginosa* in vivo. Αυτά τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η

PON1 μπορεί να ρυθμίζει την ανάπτυξη των μικροβίων<sup>596</sup>. Επιπρόσθετα, μελέτες έδειξαν ότι η PON ελαττώνει την αντίσταση της *Pseudomonas aeruginosa* στην κεφαζιδίμη και τη γενταμικίνη<sup>597</sup>.

Αξιοσημείωτες είναι οι μελέτες που αφορούν την επίδραση των αντιβιοτικών στην PON. Προσδιορίσθηκε *in vitro* η ενεργότητα της PON στον ορό και σε καλλιέργειες κυττάρων HepG2 πριν και μετά την επίδραση κλαριθρομυκίνης και χλωραμφενικόλης. Μελέτες έδειξαν ότι η κλαριθρομυκίνη και η χλωραμφαινικόλη ελαττώνουν την PON1 του ορού<sup>598</sup>. Σε άλλη μελέτη<sup>599</sup> προσδιορίσθηκε η επίδραση της γενταμυκίνης και της κεφαζολίνης *in vitro* στον ορό και σε καλλιέργειες κυττάρων HepG2. Η γενταμυκίνη και η κεφαζολίνη ελάττωσαν την ενεργότητα της PON1 τόσο στον ορό όσο και στις καλλιέργειες HepG2 κυττάρων. Επιπλέον, προσδιορίσθηκε η επίδραση της γενταμυκίνης και της κεφαζολίνης στην ενεργότητα της PON1 *in vivo* σε ποντίκια. Η γενταμυκίνη και η κεφαζολίνη μείωσαν σημαντικά την ενεργότητα της PON1 στον ορό και στο ήπαρ. Ωστόσο, η κεφαζολίνη δεν είχε καμιά επίδραση στην ενεργότητα της PON1 στο ήπαρ *in vivo*.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 10

### ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ

#### 10.1 ΒΡΟΥΚΕΛΛΩΣΗ

##### 10.1.1 Εισαγωγή

Η βρουκέλλωση είναι μια χρόνια κοκκιωματώδης λοίμωξη από ενδοκυττάρια Gram(-) βακτήρια. Η λοίμωξη μεταδίδεται στον άνθρωπο από προσβεβλημένα ζώα (ζωνόσος), κυρίως οικόσιτα θηλαστικά. Είναι διαδεδομένη σε ολόκληρο τον κόσμο και σύμφωνα με τη WHO (World Health Organization) η Ελλάδα είναι στη λίστα των 25 χωρών με τη μεγαλύτερη επίπτωση της βρουκέλλωσης σε παγκόσμια κλίμακα<sup>600</sup>. Η ταξινόμηση των βρουκελλών γίνεται ανάλογα με τον ξενιστή που προσβάλλει το κάθε είδος του μικροβίου: *B. melitensis* (αιγοπρόβατα), *B. abortus* (βοοειδή), *B. canis* (κυνοειδή), *B. suis* (χοίροι), *B. bovis* (πρόβατα), *B. neotomae* (τρωκτικά), *B. rippipediae* και *B. cetaceae* (θαλάσσιοι οργανισμοί). Η λοίμωξη από *B. melitensis* αποτελεί την κυριότερη αιτία βρουκέλλωσης και προκαλεί τη σοβαρότερη λοίμωξη στον άνθρωπο<sup>601</sup>. Οι βρουκέλλες εισέρχονται στον οργανισμό με την κατάποση μολυσμένων προϊόντων, με την εισπνοή και διαμέσου των βλεννογόνων και της λύσης της συνεχείας του δέρματος<sup>602</sup>. Συνήθης τρόπος μετάδοσης της λοίμωξης είναι η κατανάλωση μολυσμένων γαλακτοκομικών προϊόντων. Ακόμη, η μετάδοση από άτομο σε άτομο είναι πολύ σπάνια και γίνεται με τη δωρεά αίματος ή ιστού<sup>603</sup> και τη σεξουαλική επαφή<sup>604</sup>.

##### 10.1.2 Παθογένεια – ο ρόλος των κυτταροκινών

Ο χρόνος επώασης της νόσου κυμαίνεται από 7 ημέρες έως 3 μήνες και σπάνια έως 10 μήνες<sup>605</sup>. Η έκθεση στον μικροοργανισμό προκαλεί χυμικές και κυτταρικές ανοσολογικές αντιδράσεις. Η αντισωματική απάντηση δεν είναι ικανή να εκριζώσει τη λοίμωξη και δεν αποτελεί σημαντικό μηχανισμό άμυνας του οργανισμού κατά της βρουκέλλας<sup>601</sup>. Η ενεργοποίηση της κυτταρικής ανοσίας είναι ο πιο σημαντικός μηχανισμός άμυνας και οι κυτταροκίνες, η INF $\gamma$ , η IL-12 και ο TNFa διαδραματίζουν ιδιαίτερο ρόλο. Η επίδραση του πολυμορφισμού της INF $\gamma$  (+874A αλληλίο) επιβεβαιώνει το σημαντικό ρόλο της στην εξέλιξη της βρουκέλλωσης. Πράγματι, οι ομοζυγώτες για το +874A αλληλίο είναι περισσότερο ευάλωτοι σε λοίμωξη από βρουκέλλα<sup>606</sup>. Ακόμη, πολλές μελέτες έδειξαν ότι η IL-12, με μηχανισμούς που δεν έχουν διευκρινισθεί, προάγει την παραγωγή της INF $\gamma$ <sup>607,608</sup>. Ο ρόλος του TNFa στη

βρουκέλλωση δεν έχει πλήρως διευκρινισθεί. Μελέτες έδειξαν ότι τα επίπεδα του TNFα ελαττώνονται στα πρώιμα στάδια της λοίμωξης. Επιπλέον, αυτή η μείωση περιορίζει τη δραστηριότητα των κυττάρων φυσικών φονέων. Πιθανά, μια πρωτεΐνη η Omp25 που βρίσκεται στην επιφάνεια της βρουκέλλας να ενεργοποιεί ένα μηχανισμό καταστολής της παραγωγής του TNFα<sup>609</sup>. Αντίθετα, άλλες μελέτες έδειξαν ότι ο TNFα αυξάνεται στη βρουκέλλωση παράλληλα με τους άλλους δείκτες φλεγμονής<sup>610</sup>.

### 10.1.3 Κλινική εικόνα<sup>600</sup>

Η εισβολή της νόσου είναι αιφνίδια ή σταδιακή. Η λοίμωξη από βρουκέλλα εκδηλώνεται με πυρετό και δύσοσμούς, νυκτερινούς ιδρώτες, μυαλγίες, αρθραλγίες, εύκολη κόπωση, φρίκια, κεφαλαλγία και απώλεια βάρους. Συχνά, η αιτία προσέλευσης του ασθενούς είναι τα συμπτώματα από τα προσβεβλημένα όργανα (εντοπισμένη νόσος). Συχνή είναι η οστεοαρθρική προσβολή, σε περισσότερο από το 40% των περιπτώσεων (οστεομυελίτιδα των οσφυϊκών και των κατώτερων θωρακικών σπονδύλων, σηπτική αρθρίτιδα, αντιδραστική αρθρίτιδα), η ηπατομεγαλία (25%), η σπληνομεγαλία (25%) και η λεμφαδενοπάθεια (10-20%). Επίσης, η βρουκέλλα προσβάλλει το ουροποιογεννητικό σύστημα (ορχεοεπιδυμιτίδα), την καρδιά (η ενδοκαρδίτιδα είναι σπάνια, αλλά αποτελεί σοβαρή επιπλοκή), το ΚΝΣ σε ποσοστό 5-7% των περιπτώσεων (μηνιγγίτιδα, εγκεφαλίτιδα, μηνιγγοεγκεφαλίτιδα), τους οφθαλμούς (ραγοειδίτιδα, οπτική νευρίτιδα), τους πνεύμονες (πνευμονία, εμπύημα, απόστημα, πυλαία ή παραπυλαία λεμφαδενοπάθεια, διάμεση πνευμονίτιδα) και το δέρμα (μη ειδικό κηλιδοβλατιδώδες εξάνθημα). Ακόμη, συχνά η διάκριση της υποτροπής και της επαναλοίμωξης είναι δυσχερής.

### 10.1.4 Διάγνωση<sup>601,602</sup>

Ο εργαστηριακός έλεγχος τυπικά δείχνει ήπια λευκοπενία με σχετική λεμφοκυττάρωση, αναιμία, θρομβοπενία και ήπια τρανσαμινασαιμία. Η διάγνωση της βρουκέλλωσης γίνεται με την απομόνωση της βρουκέλλας από το αίμα ή τους προσβεβλημένους ιστούς, καθώς και με την ανίχνευση του γονιδιώματος και των ειδικών αντισωμάτων κατά της βρουκέλλας.

Οι θετικές **καλλιέργειες αίματος**<sup>601</sup> θέτουν οριστικά τη διάγνωση. Η καλλιέργεια του μυελού των οστών αποτελεί εξέταση με σημαντική ευαισθησία, αφού η βρουκέλλα προσβάλλει το δικτυοενδοθηλιακό σύστημα.

Ακόμη, η **μέθοδος PCR** (polymerase chain reaction) είναι χρήσιμη για την ανίχνευση του γονιδιώματος της βρουκέλλας. Η **συγκολλητινοαντίδραση Wright [standard tube agglutination test (SAT)]** είναι η πιο κοινή και απλή εξέταση για τη διάγνωση της βρουκέλλας και ανιχνεύει τα αντισώματα κατά του S-LPS. Επειδή η αντίδραση Wright υπολογίζει τη συνολική ποσότητα των αντισωμάτων δεν διακρίνει την οξεία από τη χρόνια νόσο και τις υποτροπές της. Επιπρόσθετα, είναι συχνά τα ψευδώς θετικά αποτελέσματα (διασταυρούμενες αντιδράσεις της βρουκέλλας με άλλα μικρόβια) και τα ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα στις χαμηλές συγκεντρώσεις που οφείλονται στην παρουσία ατελώς δεσμευτικών αντισωμάτων (φαινόμενο προζώνης). Η **συγκολλητινοαντίδραση Rose Begal Plate Agglutination test (RBPT)** γίνεται γρήγορα και εύκολα και έχει υψηλή ευαισθησία (>99%) αλλά χαμηλή ειδικότητα.

**Πίνακας 5. Οδηγίες για τη θεραπεία της μη επιπλεγμένης βρουκέλλωσης<sup>611</sup>**

	WHO/1986	PLoS medicine /2007	BMJ/ 2008
1η επιλογή	DOX 6w +RIF 6w	DOX 6w + STR 2-3w	DOX 6w + RIF 6w + GENT 2w ή DOX 6w + GENT 2w
Εναλλακτικά	Tetracyclin 6w + STR 2-3w	DOX 6w + RIF 6w	DOX 6w + STR 2w
2 <sup>η</sup> επιλογή	-	DOX 6w + GENT 1w	DOX 6w + RIF 6w ή Tetracyclin hydrochloride 6w + GENT ή STR 2w
Προαιρετικά / υπάρχουν λίγα διαθέσιμα στοιχεία	TMP-SMX	1) TMP-SMX 6w ως 3ο φάρμακο σε συνδυασμό πάντοτε με DOX 2) Ofloxacin ή Ciprofloxacin 6w ως 2 <sup>ο</sup> ή 3 <sup>ο</sup> φάρμακο σε συνδυασμό πάντοτε με DOX	TMP-SMX + DOX ή RIF 6w
Δεν συνιστάται	-	Αζιθρομυκίνη ή Μεροπενέμη	Μονοθεραπεία ή <30 μέρες θεραπεία ή Κινολόνη με ή χωρίς RIF ή DOX

**DOX** (Doxycycline) 100mgx2, **GENT** (Gentamicin) 240mg/ημέρα, **RIF** (Rifampicin) 900mg1x1, **STR** (Streptomycin) 1g/ημέρα, **TMP-SMX** (Trimethoprim-sulfamethoxazole, 800+160mg) x2, **Tetracycline hydrochloride** 500 mgx4

**Η ενζυμική ανοσοπροσοφητική μέθοδος (ELISA) είναι η πιο αξιόπιστη μέθοδος για την ανίχνευση των ειδικών αντισωμάτων** κατά των βρουκελλών (IgM, IgG, IgA). Κατά κανόνα χρησιμοποιούνται ως αντιγόνα κυτταροπλασματικές πρωτεΐνες, με αποτέλεσμα να αποφεύγονται τα ψευδώς θετικά αποτελέσματα και οι διασταυρούμενες αντιδράσεις με άλλα μικρόβια. Οι IgM ανοσοσφαιρίνες συχνά εμφανίζουν υψηλότερους τίτλους από τις IgG ανοσοσφαιρίνες για περισσότερο από 6 μήνες. Η ανίχνευση IgG και IgA αντισωμάτων για περισσότερο από 6 μήνες συσχετίζεται με χρόνια νόσο.

#### **10.1.5 Θεραπεία<sup>601 611 612</sup>**

Οι οδηγίες για τη θεραπεία της βρουκέλλωσης που δημοσιεύθηκαν πρόσφατα<sup>612</sup> παρουσιάζουν κοινά σημεία και διαφορές σε σύγκριση με τις προηγούμενες οδηγίες<sup>611</sup> (**πίνακας 5**). Ωστόσο, σε περίπτωση εντοπισμένης νόσου (οστικής προσβολής, σπονδυλίτιδας, ενδοκαρδίτιδας, προσβολής του ΚΝΣ), η παράταση της θεραπείας για αρκετές εβδομάδες ή μήνες, καθώς και η χειρουργική παρέμβαση (σε περίπτωση σοβαρής λοίμωξης) είναι απαραίτητη. Επιπλέον, σε έγκυες γυναίκες προτείνεται TMP-SMX (Trimethoprim–Sulfamethoxazole) ή TMP-SMX+RIF<sup>612</sup> ή RIF ((Rifampicin)<sup>611</sup> και σε παιδιά TMP-SMX, αμινογλυκοσίδες και RIF.

## **10.2 ΛΟΙΜΩΞΗ ΑΠΟ ΤΟΝ ΙΟ EPSTEIN BARR**

### **10.2.1 Εισαγωγή**

Ο ιός Epstein Barr (EBV) προκαλεί το σύνδρομο της λοιμώδους μονοπυρήνωσης (Infectious Mononucleosis, IM), το οποίο χαρακτηρίζεται από πυρετό, κυνάγχη, λεμφαδενοπάθεια και άτυπη λεμφοκυττάρωση. Ο ιός EBV ανήκει στη γ-υπο-οικογένεια των ερπητοϊών και αποτελείται από ένα πυρήνα με διπλή έλικα DNA, ο οποίος περιβάλλεται από πρωτεϊνικό καψίδιο με σχήμα εικοσαέδρου και αυτό από γλυκοπρωτεϊνικό έλυτρο<sup>613</sup>. Ο ιός EBV συσχετίστηκε με το σύνδρομο χρόνιας κόπωσης και με την ανάπτυξη νεοπλασμάτων, όπως το ρινοφαρυγγικό καρκίνωμα, το λέμφωμα Burkitt, το λέμφωμα Hodgkin και σε ανοσοκατεσταλμένους το λέμφωμα από B κυττάρων, το ρινικό λέμφωμα από T κύτταρα και το λειομυοσάρκωμα<sup>614</sup>. Ο ιός EBV είναι διαδεδομένος σε ολόκληρο τον κόσμο, έχει μολύνει περισσότερο από το 90% του πληθυσμού παγκοσμίως και μεταδίδεται κυρίως με την άμεση επαφή. Η

IM εμφανίζεται κυρίως σε νεαρούς ενήλικες και είναι συχνότερη στην πρώιμη παιδική ηλικία και την όψιμη εφηβεία<sup>614</sup>.

### **10.2.2 Εργαστηριακά ευρήματα**

Η λοίμωξη από τον ιό EBV χαρακτηρίζεται από λεμφοκυττάρωση και την παρουσία άτυπων λεμφοκυττάρων σε ποσοστό περισσότερο από 10%. Τα άτυπα λεμφοκύτταρα είναι μεγάλα λεμφοκύτταρα με άφθονο κυτταρόπλασμα, κενोटόπια και οδοντώσεις της κυτταρικής τους μεμβράνης. Επιπλέον, τα λεμφοκύτταρα CD8+ επικρατούν μεταξύ των άτυπων λεμφοκυττάρων. Συχνά, εμφανίζεται ήπια ουδετεροπενία και θρομβοπενία και επηρεασμένη ηπατική βιολογία. Ακόμη, η λοίμωξη από τον ιό EBV προκαλεί πολυκλωνική διέγερση των B λεμφοκυττάρων και είναι δυνατό να βρεθεί υπεργαμμασφαιριναιμία, θετικός ρευματοειδής παράγοντας και αντιπυρηνικά αντισώματα<sup>614</sup>.

### **10.2.3 Διάγνωση**

Η λοίμωξη από τον ιό EBV ενεργοποιεί τα T λεμφοκύτταρα και την παραγωγή των κυτταροκινών (κυρίως της IL-2 και της INFγ), καθώς και την παραγωγή αντισωμάτων. Τα ετερόφιλα αντισώματα στον ορό των ασθενών με λοίμωξη από EBV είναι IgM αντισώματα τα οποία συγκολλούν τα ερυθροκύτταρα του προβάτου. Η ανίχνευση των ετερόφιλων αντισωμάτων (Monotest) είναι χρήσιμη εξέταση για τη διάγνωση της IM. Η πιθανότητα ανίχνευσης των ετερόφιλων αντισωμάτων είναι μεγαλύτερη μετά την 1<sup>η</sup> εβδομάδα εκδήλωσης των συμπτωμάτων<sup>615</sup>. Επιπρόσθετα, το ειδικό αντίσωμα IgM κατά του αντιγόνου του ιικού καψιδίου (viral capsid antigen, VCA) είναι χρήσιμο για τη διάγνωση της EBV λοίμωξης, επειδή ανιχνεύεται στο 90% των ασθενών ταυτόχρονα με την έναρξη των συμπτωμάτων και έχει υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα (97 και 94% αντίστοιχα). Το ειδικό αντίσωμα IgG-VCA δείχνει παρελθούσα λοίμωξη. Άλλα αντισώματα κατά των αντιγόνων του EBV, όπως τα αντισώματα κατά των αντιγόνων του πυρήνα EBNA (EBV nuclear antigen) και τα αντισώματα κατά των πρώιμων αντιγόνων EA (early antigen) μπορεί να ανιχνευθούν στην οξεία λοίμωξη, ωστόσο δεν είναι χρήσιμα για τη διάγνωση της λοίμωξης<sup>614</sup>. Παρόλο που σπάνια είναι απαραίτητη, η μέθοδος PCR (polymerase chain reaction) μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ανίχνευση του DNA του ιού EBV στο αίμα<sup>616</sup>.

#### 10.2.4 Κλινική εικόνα- Επιπλοκές

Η περίοδος της επώασης του ιού EBV είναι περίπου 4-6 εβδομάδες. Τα πρόδρομα συμπτώματα (κόπωση, κακουχία, μυαλγίες) εμφανίζονται 1-2 εβδομάδες πριν από τον πυρετό, την κυνάγχη και τη λεμφαδενοπάθεια. Η λεμφαδενοπάθεια μπορεί να είναι γενικευμένη, ωστόσο συχνότερα διογκώνονται οι οπίσθιοι τραχηλικοί λεμφαδένες. Οι διογκωμένοι λεμφαδένες συχνά είναι μαλακοί συμμετρικοί και ευκίνητοι. Συχνά, εμφανίζεται φαρυγγίτιδα και διόγκωση των αμυγδαλών με εξίδρωμα που μοιάζει με αυτό της στρεπτοκοκκικής λοίμωξης<sup>617</sup>.

Οι περισσότεροι ασθενείς που παίρνουν αμπικιλίνη αναπτύσσουν κηλιδώδες εξάνθημα. Αυτό το εξάνθημα δεν είναι προγνωστικό των αλλεργικών αντιδράσεων στην πενικιλίνη. Η μηνιγγίτιδα και η εγκεφαλίτιδα είναι οι συχνότερες νευρολογικές επιπλοκές. Επιπλέον, έχουν περιγραφεί παρέσεις κraniaκών νεύρων, το σύνδρομο Guillain-Barré, εγκάρσια μυελίτιδα, περιφερική νευρίτιδα και οπτική νευρίτιδα. Αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία εμφανίζεται σπάνια και οι περισσότεροι ασθενείς με αιμόλυση παρουσιάζουν ήπια αναιμία που διαρκεί 1 ή 2 μήνες<sup>617</sup>. Η ηπατομεγαλία και η σπληνομεγαλία είναι συχνό εύρημα. Ωστόσο, η ρήξη σπληνός έχει παρατηρηθεί σε λιγότερο από το 1% των περιπτώσεων. Η υπερτροφία του λεμφικού ιστού στις αμυγδαλές ή τις αδενοειδείς εκβλαστήσεις είναι δυνατό να προκαλέσει απόφραξη της ανώτερης αναπνευστικής οδού. Το ίδιο μπορεί να παρατηρηθεί και σε περίπτωση φλεγμονής και οιδήματος της επιγλωττίδας, του φάρυγγα ή της σταφυλής<sup>617</sup>. Επιπρόσθετα, ένα ποσοστό 10% περίπου των ασθενών με IM αναπτύσσουν στρεπτοκοκκική φαρυγγίτιδα<sup>618</sup>.

Άλλες σπάνιες επιπλοκές που συσχετίζονται με την οξεία λοίμωξη από EBV είναι η ηπατίτιδα, η μυοκαρδίτιδα, η περικαρδίτιδα, η πλευριτική συλλογή<sup>617</sup>, η οξεία νεφρική ανεπάρκεια<sup>619</sup>, καθώς και τα έλκη των γεννητικών οργάνων<sup>620</sup>. Επιπρόσθετα, η IM συσχετίζεται με απλασία της ερυθράς σειράς, σοβαρή ακοκκιοκυτταραιμία, πανκυταροπενία, καθώς και με το hemophagocytic lymphohistiocytosis<sup>618</sup>.

Οι περισσότερες περιπτώσεις λοιμώδους μονοπυρήνωσης είναι αυτοπεριοριζόμενες. Τα κορτικοειδή πρέπει να χορηγούνται για την αντιμετώπιση των σοβαρών επιπλοκών της λοίμωξης, όπως η απόφραξη των ανώτερων αεραγωγών. Οι θάνατοι είναι σπάνιοι και οφείλονται σε επιπλοκές



από το κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ), στη ρήξη του σπλήνα, στην απόφραξη της ανώτερης αναπνευστικής οδού και στη βακτηριδιακή επιμόλυνση<sup>618</sup>.

### **10.3 ΛΕΠΤΟΣΠΕΙΡΩΣΗ**

#### **10.3.1 Εισαγωγή**

Η λεπτοσπείρωση είναι οξεία λοίμωξη που προκαλείται από τη σπειροχαίτη *Leptospira interrogans* και έχει παγκόσμια κατανομή. Οι λεπτόσπειρες μεταδίδονται στον άνθρωπο με την κατανάλωση τροφών που έχουν μολυνθεί με τα ούρα των προσβεβλημένων ζώων. Επιπρόσθετα, οι λεπτόσπειρες μπορεί να εισβάλλουν στον οργανισμό διαμέσου των βλεννογόνων και της λύσης της συνεχείας του δέρματος. Η περίοδος επώασης είναι 2-20 ημέρες<sup>621</sup>.

#### **10.3.2 Κλινική εικόνα-Επιπλοκές**

Οι περισσότερες περιπτώσεις λεπτοσπείρωσης είναι υποκλινικές ή με ήπιες κλινικές εκδηλώσεις, ωστόσο μπορεί να εκδηλωθεί σοβαρή νόσος με ανεπάρκεια πολλών οργάνων.

Η ανικτερική λεπτοσπείρωση είναι η συχνότερη και η ηπιότερη μορφή της νόσου, είναι συχνά διφασική και αυτοπεριοριζόμενη, διαρκεί 4-30 μέρες και κατά κανόνα οδηγεί σε πλήρη ίαση. Στην αρχική ή σηψαιμική φάση εμφανίζεται υψηλός πυρετός έως 40°C, ρίγη, κοιλιακό άλγος, κεφαλαλγία, μυαλγίες και σπανιότερα ένεση των επιπεφυκότων. Άλλες, λιγότερο συχνές εκδηλώσεις είναι η πνευμονίτιδα, η φαρυγγίτιδα, οι έμετοι, οι διάρροιες, η λεμφαδενοπάθεια, η σπληνομεγαλία, η ηπατομεγαλία, τα δερματικά εξανθήματα, τα οστικά άλγη και οι αρθραλγίες<sup>622</sup>. Μετά από μια περίοδο διάρκειας 1-3 ημερών, η οποία χαρακτηρίζεται από ύφεση των συμπτωμάτων ξεκινά η δεύτερη ανοσολογική φάση. Στην ανοσολογική φάση εμφανίζεται άσηπτη μηνιγγίτιδα εξαιτίας της ανοσολογικής αντίδρασης κατά των μικροβίων<sup>623</sup>.

Η ικτερική λεπτοσπείρωση (σύνδρομο Weil) αποτελεί τη σοβαρότερη μορφή της νόσου, χαρακτηρίζεται από διαταραχή της ηπατικής βιολογίας και της νεφρικής λειτουργίας, διαταραχές του επιπέδου συνείδησης, αιμορραγίες και υπόταση και έχει θνησιμότητα 5-40%. Έτσι, ενώ οι περισσότερες περιπτώσεις της λεπτοσπείρωσης είναι ήπιες, είναι πιθανό να εμφανισθεί νεφρική ανεπάρκεια, ηπατική ανεπάρκεια, ραγοειδίτιδα (ετερόπλευρη ή

αμφοτερόπλευρη), σύνδρομο οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας, μυοκαρδίτιδα και ραβδομύλυση<sup>622</sup>. Οι αιμορραγίες, όπως η αιμόπτυση, η αιμορραγία από το γαστρεντερικό, η υπαραχνοειδής αιμορραγία, η πνευμονική αιμορραγία, η αιμορραγία των επινεφριδίων και η υπαραχνοειδής αιμορραγία οφείλονται στην εμφάνιση διάχυτης αγγειίτιδας<sup>624</sup>.

### **10.3.3 Εργαστηριακά ευρήματα**

Ο αριθμός των λευκοκυττάρων μπορεί να είναι φυσιολογικός ή πολύ υψηλός ενώ εμφανίζεται ουδετεροφιλία στα δύο τρίτα των ασθενών. Στα ούρα ανιχνεύονται λεύκωμα, κοκκώδεις κύλινδροι, καθώς και λευκά και ερυθρά αιμοσφαίρια. Επιπρόσθετα, είναι δυνατό να εμφανισθεί ίκτερος, υπονατριαιμία, θρομβοπενία και πανκυτταροπενία, καθώς και αύξηση των τρανσαμινασών και της κινάσης της κρεατίνης<sup>622</sup>.

### **10.3.4 Διάγνωση**

Οι Λεπτόσπειρες απομονώνονται σε καλλιέργειες του αίματος και του εγκεφαλονωτιαίου υγρού (τις πρώτες 10 ημέρες), καθώς και των ούρων (την δεύτερη εβδομάδα της λοίμωξης)<sup>625</sup>. Ωστόσο, η διάγνωση τίθεται με ορολογικές μεθόδους. Οι δοκιμασίες συγκόλλησης (μικροσκοπική και μακροσκοπική) γίνονται θετικές μετά από 7-10 ημέρες από την έναρξη των συμπτωμάτων και παραμένουν θετικές για πολλά χρόνια. Επιπλέον, για την ανίχνευση των ειδικών IgM αντισωμάτων κατά των λεπτοσπειρών χρησιμοποιείται η μέθοδος της έμμεσης αιμοσυγκόλλησης και η μέθοδος ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay)<sup>626,627</sup>.

### **10.3.5 Θεραπεία**

Η πενικιλίνη (1,5 εκατομμύρια / 6 ώρες) και η κεφτριαξόνη (1gr / ημέρα) είναι τα φάρμακα εκλογής και είναι αποτελεσματικά φάρμακα στις σοβαρές λοιμώξεις. Η δοξυκυκλίνη (100mg δύο φορές την ημέρα) είναι επίσης αποτελεσματική στις ήπιες περιπτώσεις λεπτοσπείρωσης<sup>628</sup>.

## ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Εξακολουθούν να υπάρχουν πολλά ερωτηματικά όσον αφορά τους υποκείμενους μηχανισμούς που προκαλούν ποιοτικές και ποσοτικές μεταβολές των λιπιδίων σε ασθενείς με οξείες λοιμώξεις. Στη διεθνή βιβλιογραφία δεν υπάρχουν δεδομένα για τις ενδεχόμενες μεταβολές των λιπιδίων σε ασθενείς με βρουκέλλωση. Πρέπει επίσης να αναφερθεί ότι παλαιότερη μελέτη έδειξε σημαντική μείωση των λιποπρωτεϊνών του ορού σε 36 ασθενείς με λοιμώδη μονοπυρήνωση<sup>629</sup>.

Επιπρόσθετα, διαταραχές στα λιπίδια και τις λιποπρωτεΐνες διαπιστώθηκαν σε ασθενείς με λεπτοσπείρωση<sup>630,631</sup>. Ζώα που μολύνθηκαν με είδη *Leptospira* εμφάνισαν σημαντική αύξηση των TG και της VLDL-C και σημαντική ελάττωση της HDL-C<sup>632</sup>. Σε παλαιότερη μελέτη μας δείξαμε ότι πέντε ασθενείς με λεπτοσπείρωση εμφάνισαν αυξημένα επίπεδα TG, apoB και apoE και μειωμένα επίπεδα TC, LDL-C, apoAI και Lpα<sup>633</sup>. Άλλη μικρή μελέτη με 8 ασθενείς έδειξε ότι οι ασθενείς με λεπτοσπείρωση είχαν σημαντική αύξηση των TG και σημαντική ελάττωση της HDL-C<sup>634</sup>. Επιπρόσθετα, σε ορό αλόγων προσδιορίστηκε ο τίτλος των αντισωμάτων κατά της *Leptospira* και δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στα επίπεδα των λιπιδαιμικών παραμέτρων και στις ενεργότητες της PON1 και της LpPLA<sub>2</sub> στα ζώα με πρόσφατη και παλαιότερη λοίμωξη<sup>588</sup>. Ωστόσο, πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι σε ασθενείς με λεπτοσπείρωση η ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> του ορού μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης για την εμφάνιση πνευμονικής αιμορραγίας<sup>635</sup>. Ακόμη, σε 14 ασθενείς με λεπτοσπείρωση δεν παρατηρήθηκαν μεταβολές της ενεργότητας της PON1 του ορού<sup>636</sup>.

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι ο προσδιορισμός των ποιοτικών και ποσοτικών διαταραχών των λιπιδίων σε ασθενείς με βρουκέλλωση, λοιμώδη μονοπυρήνωση και λεπτοσπείρωση.



## **ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

### **ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ**

#### **ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ**

Το υλικό της παρούσας μελέτης αποτέλεσαν τρεις ομάδες ασθενών με βρουκέλλωση, λοιμώδη μονοπυρήνωση (λοίμωξη από τον ιό Epstein Barr) και λεπτοσπείρωση και τρεις αντίστοιχες ομάδες υγιών μαρτύρων (ομάδες ελέγχου).

Οι ομάδες ελέγχου αποτελούνται από υγιή άτομα, τα οποία ήταν είτε εργαζόμενοι του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων, είτε συνοδοί των ασθενών του Εξωτερικού Ιατρείου Λιπιδίων ή της Παθολογικής Κλινικής, είτε προσήλθαν στο εξωτερικό ιατρείο για ένα τακτικό έλεγχο ρουτίνας (check-up).

Οι ασθενείς εξετάσθηκαν, διαγνώσθηκαν και σε κάποιες περιπτώσεις νοσηλεύθηκαν στην Β΄ Παθολογική Κλινική του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων. Η διάρκεια της στρατολόγησης ήταν περίπου 6 χρόνια (2004-2010). Όλοι οι ασθενείς μελετήθηκαν κατά τη διάγνωση της νόσου και τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης. Δεν σημειώθηκαν μεταβολές στο σωματικό βάρος και τις διατροφικές συνήθειες των ασθενών κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης .

Από τη μελέτη αποκλείσθηκαν ασθενείς με ιστορικό νοσημάτων που επηρεάζουν το μεταβολισμό των λιπιδίων, όπως η νεφρική ανεπάρκεια, η ηπατική νόσος, οι νεοπλασίες, ο υπερθυρεοειδισμός και ο υποθυρεοειδισμός. Επιπρόσθετα, από τη μελέτη αποκλείσθηκαν οι ασθενείς που έπαιρναν φάρμακα που επηρεάζουν το μεταβολισμό των λιπιδίων και των λιποπρωτεϊνών (π.χ. διουρητικά, β-αποκλειστές, υπολιπιδαιμικά φάρμακα, οιστρογόνα, αντισυλληπτικά κτλ.), τη νεφρική λειτουργία και την ηπατική βιολογία. Η αιμοληψία έγινε μετά από 12ωρη νηστεία σε όλα τα άτομα της μελέτης.

#### **1<sup>η</sup> Ομάδα: Ασθενείς με βρουκέλλωση**

Σε αυτή την ομάδα συμμετείχαν 28 ασθενείς με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα, 18 άντρες και 10 γυναίκες, με μέση ηλικία  $52.9 \pm 14.6$  έτη, οι οποίοι προσήλθαν με πυρετό, μυαλγίες, αρθραλγίες, εύκολη κόπωση, φρίκια και κεφαλαλγία. Η διάγνωση της οξείας λοίμωξης από βρουκέλλα τέθηκε με την ανεύρεση των ειδικών IgM αντισωμάτων έναντι των βρουκελλών με τη μέθοδο

ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay). Από τη μελέτη αποκλείστηκαν οι ασθενείς με εντοπισμένη νόσο που πήραν αντιβιοτικά για διάστημα μεγαλύτερο από 6 εβδομάδες. Έτσι, οι ασθενείς με ενδοκαρδίτιδα, μηνιγγίτιδα, σπονδυλίτιδα και αποστήματα από βρουκέλλα αποκλείστηκαν από την παρούσα μελέτη. Επιπλέον, αποκλείστηκαν από τη μελέτη οι ασθενείς με χρόνια βρουκέλλωση (συμπτώματα για διάστημα μεγαλύτερο από 12 μήνες ή ασθενείς με IgA και IgG αντισώματα για διάστημα μεγαλύτερο από 6 μήνες πριν από τη διάγνωση της λοίμωξης). Όλοι οι ασθενείς της μελέτης έλαβαν από το στόμα δοξυκυκλίνη 100mg x2/ημέρα και ριφαμπικίνη 600mg/ημέρα για 6 εβδομάδες. Την ομάδα ελέγχου αποτέλεσαν 24 υγιή άτομα της ίδιας ηλικίας και φύλου.

### **2<sup>η</sup> Ομάδα: Ασθενείς με λοίμωξη από τον ιό Epstein–Barr**

Σε αυτή την ομάδα συμμετείχαν 29 ασθενείς με οξεία λοίμωξη από τον ιό Epstein–Barr (EBV), 16 άντρες και 13 γυναίκες με μέση ηλικία  $24.3 \pm 14.6$  έτη, οι οποίοι προσήλθαν με πυρετό, κυνάγχη και λεμφαδενοπάθεια. Η διάγνωση της οξείας λοίμωξης από τον ιό EBV τέθηκε με την ανεύρεση των ειδικών IgM αντισωμάτων έναντι του καψιδικού αντιγόνου του ιού (viral capsid antigen, VCA). Επιπρόσθετα, μελετήθηκαν 30 υγιή άτομα της ίδιας ηλικίας και φύλου που αποτέλεσαν την ομάδα ελέγχου. Οι ασθενείς δεν έλαβαν κορτιζόνη, ωστόσο δέκα από αυτούς πήραν μακρολίδιο, επειδή εμφάνισαν μικροβιακή φαρυγγοαμυγδαλίτιδα.

### **3<sup>η</sup> Ομάδα: Ασθενείς με λεπτοσπείρωση**

Σε αυτή την ομάδα συμμετείχαν 11 ασθενείς με λεπτοσπείρωση, 10 άντρες και 1 γυναίκα με μέση ηλικία  $49.5 \pm 8.4$ , οι οποίοι εμφάνισαν πυρετό, μυαλγίες, ίκτερο και οξεία νεφρική ανεπάρκεια. Η διάγνωση της λεπτοσπείρωσης τέθηκε με την ανεύρεση των ειδικών IgM αντισωμάτων έναντι της *L. interrogans*. Επιπρόσθετα, μελετήθηκαν 11 υγιή άτομα της ίδιας ηλικίας και φύλου που αποτέλεσαν την ομάδα ελέγχου. Όλοι οι ασθενείς έλαβαν κεφτριαξόνη για 7 ημέρες (1gr / ημέρα).

## ΜΕΘΟΔΟΙ

### Προσδιορισμός των βιοχημικών παραμέτρων

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

Η TC και τα TG στο πλάσμα προσδιορίστηκαν με ενζυματικές μεθόδους. Για τον προσδιορισμό της **TC** αρχικά το ποσοστό της χοληστερόλης που είναι εστεροποιημένο υδρολύεται σε ελεύθερη χοληστερόλη και λιπαρά οξέα και στη συνέχεια μετατρέπεται σε χολεστενόνη και υπεροξειδίο το οποίο μετράται ποσοτικά για το σχηματισμό χρωμογόνου στα 510nm. Για τη μέτρηση των TG γίνεται καταρχήν υδρόλυση των TG σε γλυκερόλη και λιπαρά οξέα και στη συνέχεια ποσοτικό προσδιορισμό της γλυκερόλης σε τρία στάδια.

Η μέθοδος προσδιορισμού της χοληστερόλης των **HDL** λιποπρωτεϊνών περιλαμβάνει δύο στάδια. Στο πρώτο στάδιο αντισώματα ανθρώπινης απολιποπρωτεΐνης-B δεσμεύουν όλες τις άλλες λιποπρωτεΐνες εκτός της HDL και τις απενεργοποιούν ως προς τη δράση των ενζύμων που ακολουθούν. Στο δεύτερο στάδιο με την προσθήκη των ενζύμων εστεράση της χοληστερόλης και οξειδάση της χοληστερόλης προσδιορίζεται η χοληστερόλη της HDL με την μέθοδο που προαναφέρθηκε για την ολική χοληστερόλη.

Η τιμή της **LDL-C** υπολογίστηκε από τον τύπο του Friedewald

$$LDL-C = TC - (HDL-C + TG/5)$$

σε δείγματα που συλλέχθηκαν μετά από 12ωρη νηστεία όταν η τιμή των TG ήταν <400 mg/dL. Οι συγκεντρώσεις της LDL-C ατόμων με TG >400 mg/dL δεν προσδιορίστηκαν.

Ο προσδιορισμός των τιμών των **apoAI, B και E** και της **LP(a)** στον ορό έγινε με νεφελομετρία, σε νεφελόμετρο PROSPECT (Dade Behring, Lieberbach, Germany) χρησιμοποιώντας ειδικά αντισώματα για κάθε apo. Επιπλέον, ο προσδιορισμός των τιμών των **apoCII** και **apoCIII** έγινε με ανοσοθολοσιμετρική μέθοδο (Kamiya Biomedical Company, Seattle, U.S.A.) Για τον έλεγχο της αξιοπιστίας των μεθόδων προσδιορισμού της TC, των TG και της HDL-C χρησιμοποιήθηκαν οι οροί εσωτερικού ποιοτικού ελέγχου Decision<sup>®</sup> (Levels1,2,3) Beckman (Fullerton, CA) καθώς και το πρόγραμμα

εξωτερικού ποιοτικού ελέγχου (Murex Clinical Chemistry Quality Assessment Programme).

### **Η ενεργότητα της CETP**

Η ενεργότητα της CETP προσδιορίσθηκε με φθορισμομετρική μέθοδο, με τη χρήση αντιδραστηρίων Roar Biomedical, Inc., New York, 120 NY, USA. Χρησιμοποιήθηκαν 2μL πλάσματος σε αναλογία 1:1 με ρυθμιστικό διάλυμα (10 mmol/L Tris, 150 mmol/L NaCl και 2mmol/L EDTA, pH 7,4). Μετά από 1 ώρα στους 37 °C η ενεργότητα της CETP προσδιορίσθηκε από την ένταση του φθορισμού, σε ένα φασματόμετρο φθορισμού με μήκος κύματος διεγέρσης 465nm και μήκος κύματος εκπομπής 535 nm.

### **Προσδιορισμός της CRP, των κυτταροκινών και των ειδικών αντισωμάτων**

Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης της CRP στο πλάσμα έγινε με ανοσο-νεφελομετρία υψηλής ευαισθησίας από τη Dade Behring Holding GmbH (Liederbach, Germany), με όρια αναφοράς 0.175-11 mg/L. Όσον αφορά τον TNF, την IL-6 και την IL-1β οι μετρήσεις έγιναν με ποσοτική ανοσοενζυμική μέθοδο με τη χρήση αντιδραστηρίων του εμπορίου της εταιρείας QUANTIKINE-R & D systems, Abingdon, United Kingdom. Για την ανίχνευση των ειδικών αντισωμάτων κατά της βρουκέλλας (IgM, IgA, IgG), της Λεπτόσπειρας (IgM) και του ιού EBV (IgM VCA) χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay).

### **Ανάλυση των υποκλασμάτων των LDL με τη χρησιμοποίηση του Lipoprint LDL System**

#### **Αρχή της μεθόδου**

Η μέθοδος βασίζεται στην αρχή ότι τα λιποπρωτεϊνικά σωματίδια εμφανίζουν διαφορετική κινητικότητα κατά τη διάρκεια της ηλεκτροφόρησης με βάση το μέγεθος 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 μια λεπτή μπάντα στο άνω μέρος του σωληναρίου. Στη συνέχεια, καθώς τα λιποπρωτεϊνικά σωματίδια μεταναστεύουν στη γέλη διαχωρισμού, διαχωρίζονται σε λιποπρωτεϊνικές μπάντες ανάλογα με το μέγεθος τους από το μεγαλύτερο στο μικρότερο.

### **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 vials 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

### **Αποθήκευση**

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

### **Πειραματική πορεία**

25μL δείγματος (ορός ή πλάσμα) αναμειγνύεται με 200 μL loading gel και τοποθετείται προσεκτικά με αυτόματη πιπέτα στο άνω μέρος του σωλήνα που περιέχει γέλη πολυακρυλαμιδίου 3%. Στη συνέχεια, τα δείγματα φωτοπολυμερίζονται για 30 min σε θερμοκρασία δωματίου. Μετά το πέρας του φωτοπολυμερισμού, τα σωληνάκια τοποθετούνται στο θάλαμο ηλεκτροφόρησης και η ηλεκτροφόρηση πραγματοποιείται για 60 min 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 TC του δείγματος (η μέτρηση της συγκέντρωσης της TC του δείγματος γίνεται ανεξάρτητα). Το ποσοστό της χοληστερόλης των sdLDL (sdLDL-C %) ορίζεται ως το ποσοστό της LDL-C που βρίσκεται στα sdLDL σωματίδια (δηλ. 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 φαινότυπους: φαινότυπος A (απουσία sdLDL σωματιδίων) και non-A (παρουσία sdLDL σωματιδίων). Τέλος, ανάλογα με το  $R_f$  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*<sup>637</sup>:

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

## Προσδιορισμός της ενζυμικής ενεργότητας της Lp-PLA<sub>2</sub>

### Αρχή της μεθόδου

Ο υπολογισμός της ενζυμικής ενεργότητας της Lp-PLA<sub>2</sub> 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 [(<sup>3</sup>H)-PAF]. Οι οξικές ομάδες παραμένουν στο υπερκείμενο, μετά την καταβύθιση με TCA (trichloroacetic acid, τριχλωροξικό οξύ) του παραγόμενου lyso-PAF, καθώς και του [<sup>3</sup>H]-PAF που δεν διασπάσθηκε και η β ακτινοβολία που εκπέμπουν μετράται σε ειδικό μετρητή σπινθηρισμού. Τέλος, με τη βοήθεια ειδικών μαθηματικών τύπων οι μετρούμενες κρούσεις μετατρέπονται σε ενζυμική ενεργότητα η οποία εκφράζεται ως ο αριθμός των ηmol του ραδιενεργού PAF που διασπάσθηκαν από το ένζυμο στη μονάδα του χρόνου από μια συγκεκριμένη ποσότητα δείγματος.

### 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.
- [<sup>3</sup>H]-PAF [(1-O-εξαδεκύλο-2-(<sup>3</sup>H)]ακέτυλο-sn-γλύκερο-3-φωσφοχολίνη, 0.25 mCi/0.5 mL, 10 Ci/mmol), DuPont New England Nuclear, Boston, MA, USA].
- Υγρό σπινθηρισμού

### 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 απεσταγμένου νερού. Το διάλυμα φυλάσσεται στους -20°C.
- BSA 100 mg/mL: 1 g BSA διαλύεται σε 10 mL απεσταγμένου νερού. Το διάλυμα φυλάσσεται στους -20°C.
- [<sup>3</sup>H]-PAF 100 μM. Σε πλαστικό σωληνάκι πολυπροπυλενίου αναμιγνύονται 100 μL PAF 20 μM και 30 μL [<sup>3</sup>H]-PAF. Τα φωσφολιπίδια εξατμίζονται

μέχρι ξηρού σε ρεύμα αζώτου και το διάλυμα αναδιασπείρεται σε 1 mL BSA 2.5 mg/mL. Το μίγμα αναδεύεται σε vortex και στη συνέχεια επωάζεται στους 37°C για 30 λεπτά. Το διάλυμα φυλάσσεται στους -20°C.

- TCA 20%: 20 g TCA διαλύονται σε 100 mL απεσταγμένου νερού. Το διάλυμα διατηρείται στους 4°C.

### **Πειραματική πορεία**

Για τη μέτρηση της ενεργότητας της Lp-PLA<sub>2</sub> 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 [<sup>3</sup>H]-PAF 100 μM και τα δείγματα, αφού αναδευθούν ήπια, τοποθετούνται σε υδατόλουτρο όπου επωάζονται για 10 min στους 37°C. Στο τέλος αυτού του χρονικού διαστήματος η αντίδραση της Lp-PLA<sub>2</sub> 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 min. Τέλος, αφού προστεθούν 80 μL TCA 20% τα δείγματα αναδεύονται και πάλι με vortex και τοποθετούνται σε πάγο για άλλα 30 min. Στη συνέχεια τα σωληνάκια φυγοκεντρούνται σε μικροφυγόκεντρο για erpendorfs (5 min 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 αναδευτούν 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  $\mu\text{L}$  [ $^3\text{H}$ ]-PAF 100  $\mu\text{M}$ . Το πηλίκο του μέσου όρου των κρούσεων που προέρχονται από αυτά τα σωληνάκια (standard) δια του αριθμού των ημολ [ $^3\text{H}$ ]-PAF 100  $\mu\text{M}$  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  $\mu\text{M}$  στις συγκεκριμένες πειραματικές συνθήκες. Η ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> εκφράζεται ως ημολ του ραδιενεργού PAF που διασπάται στη μονάδα του χρόνου (min) από μία δεδομένη ποσότητα δείγματος και υπολογίζεται από τον παρακάτω γενικό τύπο:

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

όπου:  $\text{cpm}_\delta$  είναι οι κρούσεις που αποδίδουν τα 100  $\mu\text{L}$  κάθε δείγματος

$\text{cpm}_\tau$  είναι οι κρούσεις που αποδίδουν τα 100  $\mu\text{L}$  τυφλού

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

$\alpha$  είναι ο χρόνος επώασης του δείγματος σε λεπτά

$\beta$  είναι τα  $\mu\text{L}$  του πλάσματος και της HDL ή τα  $\mu\text{g}$  πρωτεΐνης των λιποπρωτεϊνικών υποκλασμάτων

## **Απομόνωση των λιποπρωτεϊνών υψηλής πυκνότητας από πλήρες πλάσμα**

### **Αρχή της μεθόδου**

Η μέθοδος βασίζεται στο γεγονός ότι το αντιδραστήριο καταβύθισης, το οποίο περιέχει θειική δεξτράνη και  $\text{MgCl}_2$  σχηματίζει ταχύτερα σύμπλοκα με τις λιποπρωτεΐνες που περιέχουν apoB σε σύγκριση με τις HDL.

### **Υλικά και όργανα**

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

### **Πειραματική πορεία**

500  $\mu\text{L}$  πλάσματος αναμιγνύονται με 50  $\mu\text{L}$  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 φυγοκέντρηση οδηγεί σε καταβύθιση των λιποπρωτεϊνών που περιέχουν apoB και έτσι οι HDL απομονώνονται στο υπερκείμενο, το οποίο αναροφάται προσεκτικά με αυτόματη πιπέτα.

### **Προσδιορισμός της ενεργότητας της PON1**

#### **Προσδιορισμός της ενεργότητας της PON1 με υπόστρωμα το paraoxon [PON1(paraoxon)]**

##### **Υλικά και όργανα**

- Tris HCl (MB: 156.7, Merck)
- CaCl<sub>2</sub> (MB: 111, Sigma)
- Diethyl p-Nitro Phenyl Phosphate (paraoxon) (C<sub>10</sub>H<sub>4</sub>NO<sub>6</sub>P, MB: 275.2, Sigma)
- Φασματοφωτόμετρο SpectraMax 190 (Molecular Devices)
- Κυψελίδα Elisa (96 θέσεων)

##### **Διαλύματα εργασίας**

- Διάλυμα 1M Tris HCl: 15.76 g Tris HCl διαλύονται σε 100 mL H<sub>2</sub>O και το pH 104ρυθμίζεται στο 8. Το διάλυμα φυλάσσεται στους 4°C.
- Διάλυμα 100mM CaCl<sub>2</sub>: 1.11 g CaCl<sub>2</sub> διαλύονται σε 100 mL H<sub>2</sub>O και το διάλυμα φυλάσσεται στους 4°C.
- Ρυθμιστικό διάλυμα 100mM Tris HCl (pH=8) και 2mM CaCl<sub>2</sub>:

10 mL διαλύματος 1M Tris HCl αναμιγνύονται με 2 mL διαλύματος 100mM CaCl<sub>2</sub> και ο υπόλοιπος όγκος μέχρι τα 100 mL συμπληρώνεται με H<sub>2</sub>O. Το διάλυμα φυλάσσεται στους 4°C, αλλά η θερμοκρασία του κατά την έναρξη της πειραματικής διαδικασίας πρέπει να είναι 25 °C.

- Υπόστρωμα αντίδρασης Για την παρασκευή του υποστρώματος προστίθεται τόση ποσότητα paraoxon σε ανάλογο όγκο ρυθμιστικού διαλύματος, ώστε η τελική συγκέντρωση του διαλύματος να είναι 6.11mM. Το υπόστρωμα πρέπει να παρασκευάζεται κάτω από απαγωγό λόγω της μεγάλης τοξικότητας του paraoxon.

##### **Πειραματική πορεία**

Η ενεργότητα της παραοξονάσης ως προς το παραοξόν υπολογίζεται σε ορό αίματος, ο οποίος συλλέγεται μετά από φυγοκέντρηση ολικού αίματος στα 3500 στροφές/min για 10 min. Σε κάθε θέση της πλάκας elisa τοποθετούνται

25 μl ορού στα οποία προστίθενται 225 μl υποστρώματος. Η πλάκα τοποθετείται στο φασματοφωτόμετρο και η κινητική της αντίδρασης παρακολουθείται σε μήκος κύματος 412 nm για 1.5 min στους 25 °C.

#### **Επεξεργασία των αποτελεσμάτων**

Η ενεργότητα της παραοξονάσης ως προς το παραοξόν υπολογίζεται σε U/l, όπου 1 U ισοδυναμεί με 1 nmol της p-nitrophenol που σχηματίζεται ανά μl αντίδρασης σε 1min. Ο μοριακός συντελεστής του παραοξόν για τις συγκεκριμένες συνθήκες είναι  $E_{412} = 17000 \text{ mol/l/cm}$ .

### **Προσδιορισμός της ενεργότητας της PON1 με υπόστρωμα το phenylacetate [PON1(phenylacetate)]**

#### **Υλικά και όργανα**

- Tris HCl (MB: 56.7, Merck)
- $\text{CaCl}_2$  (MB: 111, Sigma)
- Phenyl Acetate 99% ( $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{C}_4\text{H}_5$ , MB: 136.15, Sigma-Aldrich)
- Φασματοφωτόμετρο SpectraMax 190 (Molecular Devices)
- Κυψελίδα UV Elisa (96 θέσεων)

#### **Διαλύματα εργασίας**

- Διάλυμα 1M Tris HCl: Όπως περιγράφεται παραπάνω.
- Διάλυμα 100mM  $\text{CaCl}_2$ : Όπως περιγράφεται παραπάνω.
- Ρυθμιστικό διάλυμα 20mM Tris HCl (pH=8) και 2mM  $\text{CaCl}_2$ :

2 mL διαλύματος 1M Tris HCl αναμιγνύονται με 2 mL διαλύματος 100mM  $\text{CaCl}_2$  και ο υπόλοιπος όγκος μέχρι τα 100 mL συμπληρώνεται με  $\text{H}_2\text{O}$ . Το διάλυμα φυλάσσεται στους 4°C, αλλά η θερμοκρασία του κατά την έναρξη της πειραματικής διαδικασίας πρέπει να είναι 25 °C.

- Υπόστρωμα αντίδρασης

Για την παρασκευή του υποστρώματος αναμιγνύουμε 10 mL του παραπάνω ρυθμιστικού διαλύματος με 1.6 μl φαινυλ-οξικού. Το υπόστρωμα παρασκευάζεται ακριβώς πριν την έναρξη της πειραματικής διαδικασίας.

#### **Πειραματική πορεία**

Η ενεργότητα της παραοξονάσης ως προς το φαινυλ-οξικό υπολογίζεται σε ορό αίματος, ο οποίος συλλέγεται μετά από φυγοκέντρηση ολικού αίματος στα 3500 στροφές/min για 10 min. Αρχικά, αναμιγνύουμε 10 μl ορού με 990 μl

ρυθμιστικού διαλύματος. Σε κάθε θέση της πλάκας τοποθετούνται 50μl αυτού του διαλύματος, στα οποία προστίθενται 200 μl υποστρώματος. Η πλάκα τοποθετείται στο φασματοφωτόμετρο και η κινητική της αντίδρασης παρακολουθείται σε μήκος κύματος 270 nm για 1.5 min στους 25 °C.

#### **Επεξεργασία των αποτελεσμάτων**

Η ενεργότητα της παραοξονάσης ως προς το φαινυλ-οξικό υπολογίζεται σε U/mL, όπου 1 U ισοδυναμεί με 1 μmol του φαινυλ-οξικού που υδρολύθηκε σε 1μl υποστρώματος στο 1 min. Ο μοριακός συντελεστής απορρόφησης του φαινυλ-οξικού στις συγκεκριμένες συνθήκες είναι  $E_{270} = 1310 \text{ mol/l/cm}$ .



## ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Για όλες τις παραμέτρους της μελέτης έγινε προκαταρκτική ανάλυση ώστε να αποκλεισθεί η περίπτωση παραβίασης των παραδοχών της κανονικής κατανομής των παραμέτρων. Η δοκιμασία των Shapiro-Wilk χρησιμοποιήθηκε για την εκτίμηση της κανονικής κατανομής των παραμέτρων. Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέση τιμή  $\pm$  σταθερή απόκλιση (SD), εκτός από τις μεταβλητές, οι οποίες δεν ακολουθούν κανονική κατανομή και οι οποίες εκφράζονται ως διάμεση τιμή (εύρος). Η σημαντικότητα ορίσθηκε για τιμή του  $p < 0.05$ .

Η σύγκριση των τιμών των παραμέτρων των ασθενών με οξεία λοίμωξη και τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης έγινε με τη δοκιμασία paired samples t-test ή τη δοκιμασία Wilcoxon's rank test για τις κανονικές και μη-κανονικές μεταβλητές, αντίστοιχα. Οι διαφορές στις παραμέτρους μεταξύ των ασθενών και της ομάδας ελέγχου εκτιμήθηκαν με τη χρησιμοποίηση του t-test για ανεξάρτητα δείγματα ή του Mann-Whitney U test για τις κανονικές και μη-κανονικές μεταβλητές, αντίστοιχα.

Οι συσχετίσεις μεταξύ των μεταβλητών της μελέτης για τις κανονικές και μη-κανονικές μεταβλητές εκτιμήθηκαν με τη χρησιμοποίηση του Pearson product-moment correlation coefficient (r) ή του Spearman's rank order correlation (rho), αντίστοιχα.

Για την εκτίμηση της συσχέτισης μεταξύ μιας εξαρτημένης μεταβλητής και μιας ομάδας ανεξάρτητων παραμέτρων (ή προγνωστικών δεικτών, predictors) χρησιμοποιήθηκε ανάλυση με πολλαπλή γραμμική παλινδρόμηση. Χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος για την ταυτόχρονη είσοδο όλων των παραγόντων στο μοντέλο της πολυπαραγοντικής ανάλυσης.

Όλες οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με προσωπικό υπολογιστή και τη χρησιμοποίηση του λογισμικού SPSS 13.0.



## **ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ**

### **Το λιπιδαιμικό προφίλ των ασθενών με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα (πίνακες 6,7)**

Οι ασθενείς με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου είχαν σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα TC, HDL-C, LDL-C, apoA1, apoB και apoCIII, δεν είχαν σημαντικές διαφορές στα επίπεδα των TG, της apoE, της apoCII και της Lp(a) και είχαν σημαντικά αυξημένους τους αθηρωματικούς δείκτες apoB/apoA1 και LDL-C/HDL-C. Επιπρόσθετα, σε αυτούς τους ασθενείς η ενεργότητα της CETP ήταν σημαντικά υψηλότερη σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου. Ακόμη, στους ασθενείς με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα υπήρχε αρνητική συσχέτιση των επιπέδων της TC, της HDL-C, της LDL-C, της apoB και της apoA1 με τα επίπεδα της IL-6 ( $r=-0.40$ ,  $r=-0.36$ ,  $r=-0.38$ ,  $r=-0.39$  και  $r=-0.42$ , αντίστοιχα,  $p<0.05$  σε όλες τις περιπτώσεις). Ωστόσο, δεν βρέθηκαν αντίστοιχες συσχετίσεις με τις άλλες κυτταροκίνες που μελετήθηκαν (TNFα και IL-1β). Επιπρόσθετα, παρατηρήθηκε αρνητική συσχέτιση μεταξύ της apoA1 και της CRP ( $r=-0.49$ ,  $p<0.05$ ), καθώς και θετική συσχέτιση μεταξύ των TG και της CRP ( $r=0.42$ ,  $p<0.05$ ).

Τέσσερις μήνες μετά τη θεραπεία τα επίπεδα της TC, της HDL-C, της LDL-C, της apoB, της apoA1 και της apoCIII αυξήθηκαν και ο λόγος apoB/apoA1 μειώθηκε σημαντικά. Ωστόσο, τα επίπεδα των TG, της apoE, της apoCII και της Lp(a), καθώς και ο λόγος LDL-C/HDL-C δεν μεταβλήθηκαν σημαντικά. Επιπρόσθετα, η ενεργότητα της CETP μειώθηκε μετά την αποδρομή της λοίμωξης σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές που παρατηρήθηκαν στην οξεία λοίμωξη. Αξιοσημείωτο είναι ότι οι μεταβολές της ενεργότητας της CETP ( $\Delta$ CETP) είχαν αρνητική συσχέτιση με τις μεταβολές της HDL-C ( $\Delta$ HDL-C) ( $r=-0.42$ ,  $p=0.02$ ). Ωστόσο, δεν βρέθηκε συσχέτιση των μεταβολών της ενεργότητας της CETP ( $\Delta$ CETP) με τις μεταβολές των επιπέδων κυτταροκινών που προσδιορίστηκαν

### **Τα υποκλάσματα των LDL στους ασθενείς με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα (πίνακας 7, εικόνες 12, 13)**

Στους ασθενείς με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου η συγκέντρωση της χοληστερόλης των μεγάλων LDL σωματιδίων ήταν μειωμένη, η μέση διάμετρος των LDL

σωματιδίων ήταν μικρότερη και η χοληστερόλη των sdLDL σωματιδίων ήταν υψηλότερη.

Σε αυτούς τους ασθενείς, τέσσερις μήνες μετά τη θεραπεία τα επίπεδα της χοληστερόλης των VLDL και των sdLDL σωματιδίων και η μέση διάμετρος των LDL σωματιδίων δεν μεταβλήθηκαν σημαντικά. Αντίθετα, τέσσερις μήνες μετά τη θεραπεία αυξήθηκε σημαντικά η συγκέντρωση της χοληστερόλης των μεγάλων LDL σωματιδίων. Στους ασθενείς με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα η συγκέντρωση της sdLDL-C συσχετιζόταν με το ανδρικό φύλο ( $r=0.55$ ,  $p<0.05$ ), τα επίπεδα των TG ( $r=0.35$ ,  $p<0.05$ ), της IL-6 ( $r=0.39$ ,  $p<0.05$ ) και της CRP ( $r=0.41$ ,  $p<0.05$ ). Το μέγεθος των LDL σωματιδίων συσχετιζόταν αρνητικά με το ανδρικό φύλο ( $r=-0.58$ ,  $p=0.01$ ), τα επίπεδα των TG ( $r=-0.52$ ,  $p<0.01$ ), της IL-6 ( $r=-0.62$ ,  $p<0.01$ ), του TNF $\alpha$  ( $r=-0.49$ ,  $p<0.01$ ) και της CRP ( $r=-0.41$ ,  $p<0.05$ ). Η πολυπαραγοντική ανάλυση (multiple regression analysis) των παραμέτρων που συσχετιζόταν σημαντικά με τη συγκέντρωση της sdLDL-C και το μέγεθος των LDL σωματιδίων στη μονοπαραγοντική ανάλυση (univariate regression analysis) έδειξε ότι το φύλο, τα τριγλυκερίδια, καθώς και η συγκέντρωση της IL-6 ήταν οι καλύτεροι προγνωστικοί δείκτες για την παρουσία των sdLDL σωματιδίων στο πλάσμα (πίνακας 10).

### **Η ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> στους ασθενείς με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα (πίνακας 8)**

Στους ασθενείς με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα η ολική ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> στο πλάσμα και η ενεργότητα της HDL-Lp-PLA<sub>2</sub>, καθώς και ο λόγος Lp-PLA<sub>2</sub>/apoB δεν εμφάνισαν σημαντικές διαφορές σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου. Επιπρόσθετα, η ολική ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> συσχετιζόταν αρνητικά με τα επίπεδα της IL-6 ( $r=-0.45$ ,  $p<0.05$ ) και του TNF $\alpha$  ( $r=-0.53$ ,  $p=0.01$ ). Αντίθετα, δεν βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ της ενεργότητας της HDL-Lp-PLA<sub>2</sub> και των επιπέδων της IL-6, της IL-1b, του TNF $\alpha$  και της CRP. Η πολυπαραγοντική ανάλυση (multiple regression analysis) των παραμέτρων που συσχετιζόταν σημαντικά με την Lp-PLA<sub>2</sub> στη μονοπαραγοντική ανάλυση (univariate regression analysis) έδειξε ότι εκτός από τα επίπεδα της LDL-C, ο TNF $\alpha$  είναι ο μοναδικός προγνωστικός δείκτης όσον αφορά την ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> στο πλάσμα (πίνακας 11).

Τέσσερις μήνες μετά τη θεραπεία η ολική ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub>, η HDL-Lp-PLA<sub>2</sub> και ο λόγος της ολικής ενεργότητας της Lp-PLA<sub>2</sub>/apoB δεν μεταβλήθηκαν σημαντικά.

**Οι ενεργότητες της PON1 (paraoxonase, arylesterase) στους ασθενείς με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα (πίνακας 8).**

Οι ενεργότητες της PON1 (arylesterase και paraoxonase) των ασθενών με οξεία λοίμωξη ήταν σημαντικά χαμηλότερες σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Τέσσερις μήνες μετά τη θεραπεία οι ενεργότητες της PON1 (arylesterase και paraoxonase) αυξήθηκαν σημαντικά. Δεν βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ της ενεργότητας της PON1 (arylesterase και paraoxonase) και των λιπιδαιμικών παραμέτρων με τους παράγοντες που ευοδώνουν τη φλεγμονή.

**Οι κυτταροκίνες και η CRP των ασθενών με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα (πίνακας 9)**

Οι ασθενείς με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα είχαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα IL-1β, IL-6, TNFα και CRP σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης παρατηρήθηκε σημαντική μείωση των επιπέδων της IL-1β, της IL-6 και της CRP, ενώ τα επίπεδα του TNFα δεν μεταβλήθηκαν σημαντικά.

**Το αιματολογικό προφίλ των ασθενών με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα (πίνακας 9).**

Δεν βρέθηκε σημαντική διαφορά στον αριθμό των λευκών αιμοσφαιρίων και των επιμέρους συστατικών τους (ουδετερόφιλα, λεμφοκύτταρα και μονοκύτταρα) στους ασθενείς με οξεία λοίμωξη σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές 4 μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης, καθώς και σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου.

Στους ασθενείς τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου τα επίπεδα της HDL-C και της apoAI ήταν χαμηλότερα και η μέση διάμετρος των LDL σωματιδίων μικρότερη. Επιπρόσθετα, τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης οι ασθενείς είχαν αυξημένο λόγο LDL-C/HDL-C, αυξημένη sdLDL-C %, αυξημένα επίπεδα χοληστερόλης των

μικρών-πυκνών LDL σωματιδίων και αυξημένα επίπεδα IL-6 σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου. Αντίθετα, μετά την αποδρομή της λοίμωξης τα επίπεδα της TC, των TG, της LDL χοληστερόλης, της χοληστερόλης των VLDL και των μεγάλων LDL σωματιδίων, τα επίπεδα της apoB, της apoE, της apoCII, της apoCIII, της Lp(a) και της CETP δεν διέφεραν σημαντικά από τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου. Επιπρόσθετα, τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης τα επίπεδα της ολικής Lp-PLA<sub>2</sub> και της HDL-Lp-PLA<sub>2</sub>, καθώς και ο λόγος apoB/apoAI και τα επίπεδα της PON1 (paraoxonase και arylesterase), της CRP, της IL-1β και του TNFα δεν διέφεραν σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου.

**Πίνακας 6. Κλινικά χαρακτηριστικά και λιπιδαιμικό προφίλ της ομάδας ελέγχου και των ασθενών με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα**

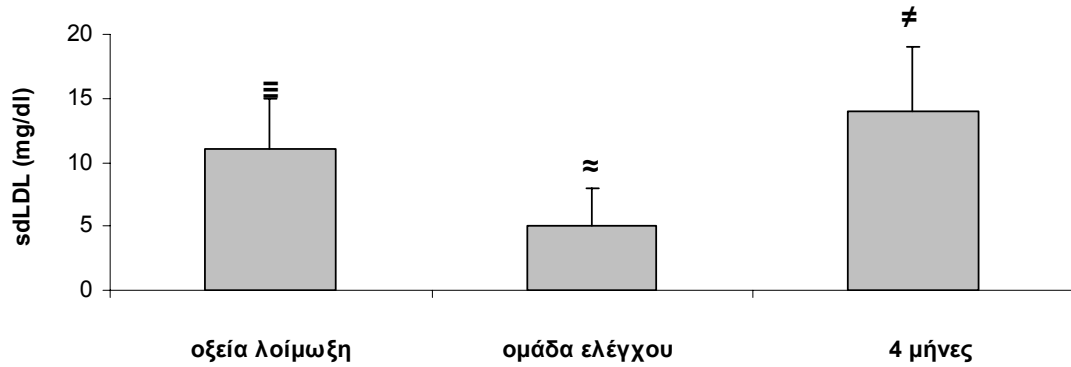
	Ασθενείς με οξεία λοίμωξη (N=28)	Ομάδα ελέγχου (N=24)	p*	Ασθενείς 4 μήνες μετά τη θεραπεία (N=28)	p**	p***
<b>Age</b>	52.9±14.6	50.6±10.2	NS	-	-	-
<b>Sex (M/F)</b>	18/10	14/10	NS	-	-	-
<b>BMI (Kg/m<sup>2</sup>)</b>	26.1±4.2	26.8±4.5	NS	26.3±4.8	NS	NS
<b>Smokers (Yes/No)</b>	10/18	9/16	NS	-	-	-
<b>TC (mg/dL)</b>	171±27	221±31	<0.001	211±40	<0.001	NS
<b>HDL-C (mg/dL)</b>	35±8	59±9	<0.001	48±9	<0.001	<0.001
<b>TG (mg/dL)</b>	122±40	111±41	NS	125±80	NS	NS
<b>LDL-C (mg/dL)</b>	114±28	139±31	<0.05	140±31	0.01	NS
<b>LDL-C/HDL-C</b>	3.4±0.1	2.4±0.7	<0.001	3.0±0.9	NS	<0.05

p\* Σύγκριση των τιμών των ασθενών με οξεία λοίμωξη με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου, p\*\* Σύγκριση των τιμών των ασθενών με οξεία λοίμωξη με τις αντίστοιχες τιμές 4 μήνες μετά τη θεραπεία, p\*\*\* Σύγκριση των τιμών των ασθενών 4 μήνες μετά τη θεραπεία με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου  
 BMI: body mass index, δείκτης μάζας σώματος, TC: total cholesterol, ολική χοληστερόλη, TG: triglycerides, τριγλυκερίδια, HDL-C: high-density lipoprotein cholesterol, χοληστερόλη των χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, LDL-C: low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C: low-density lipoprotein cholesterol, χοληστερόλη των υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, NS = not significant





**Εικόνα 12. Επίπεδα χοληστερόλης στα μικρά πυκνά LDL (sdLDL) σωματίδια σε ασθενείς με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα**



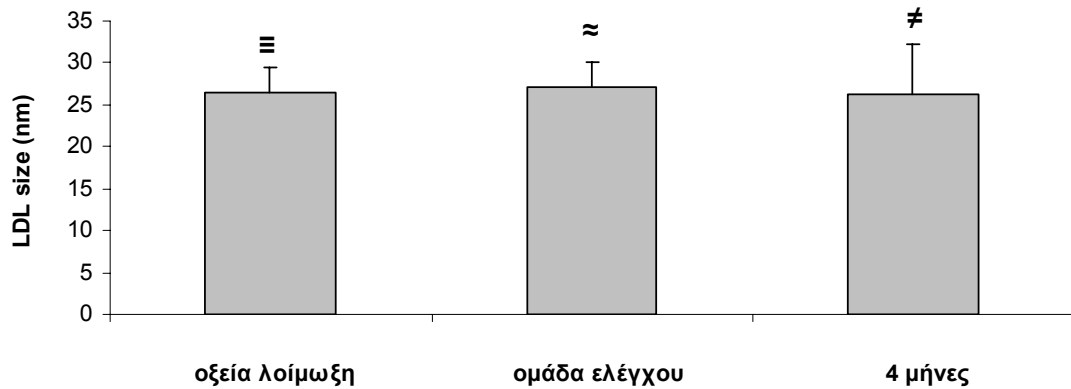
≡  $p < 0.05$  σε σύγκριση των τιμών των ασθενών με οξεία λοίμωξη με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου

≈  $p = 0.01$  σε σύγκριση των τιμών των ασθενών 4 μήνες μετά τη θεραπεία με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδα ελέγχου

≠ NS σε σύγκριση των τιμών των ασθενών με οξεία λοίμωξη με τις αντίστοιχες τιμές 4 μήνες μετά τη θεραπεία

NS = not significant

**Εικόνα 13. Διάμετρος των LDL σωματιδίων σε ασθενείς με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα**



≡  $p < 0.001$  σε σύγκριση των τιμών των ασθενών με οξεία λοίμωξη με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου

≈  $p = 0.01$  σε σύγκριση των τιμών των ασθενών 4 μήνες μετά τη θεραπεία με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδα ελέγχου

≠ NS σε σύγκριση των τιμών των ασθενών με οξεία λοίμωξη με τις αντίστοιχες τιμές 4 μήνες μετά τη θεραπεία

NS = not significant

**Πίνακας 8. Οι ενεργότητες της Lp-PLA<sub>2</sub>, της PON1 (paraoxonase) και της PON1 (arylesterase) της ομάδας ελέγχου και των ασθενών με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα**

	Ασθενείς με οξεία λοίμωξη (N=28)	Ομάδα ελέγχου (N=24)	p*	Ασθενείς 4 μήνες μετά τη θεραπεία (N=28)	p**	p***
<b>Total plasma Lp-PLA<sub>2</sub> (nmol/min/mL)</b>	50.6±15.7	47.3±13.8	NS	53.6±12.5	NS	NS
<b>HDL-Lp-PLA<sub>2</sub> (nmol/min/mL)</b>	2.9±1.9	2.4±0.9	NS	3.2±1.3	NS	NS
<b>Total plasma Lp-PLA<sub>2</sub>/ApoB (nmol/mg/min)</b>	0.65±0.26	0.58±0.17	NS	0.60±0.18	NS	NS
<b>PON1 (paraoxonase) (U/L)</b>	80.5 (10.0-163.0)	111.5 (23.2-240.7)	<0.001	89.0 (28.0-291.0)	<0.05	NS
<b>PON1 (arylesterase) (U/mL)</b>	36.3 ± 7.9	46.2 ± 17.9	<0.05	42.2 ± 7.9	<0.05	NS

p\* Σύγκριση των τιμών των ασθενών με οξεία λοίμωξη με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου, p\*\* Σύγκριση των τιμών των ασθενών με οξεία λοίμωξη με τις αντίστοιχες τιμές 4 μήνες μετά τη θεραπεία, p\*\*\* Σύγκριση των τιμών των ασθενών 4 μήνες μετά τη θεραπεία με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου  
Lp-PLA<sub>2</sub>: lipoprotein-associated phospholipase A<sub>2</sub>, συσχετιζόμενη με λιποπρωτεΐνες φωσφολιπάση A<sub>2</sub>, PON1: paraoxonase 1, παραοξονάση 1, apo: apolipoprotein, HDL-C: high-density lipoprotein cholesterol, χαμητέρω των χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, NS = not significant

**Πίνακας 9. Τα επίπεδα των κυτταροκινών και το αιματολογικό προφίλ της ομάδας ελέγχου και των ασθενών με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα**

	Ασθενείς με οξεία λοίμωξη (N=28)	Ομάδα ελέγχου (N=24)	p*	Ασθενείς 4 μήνες μετά τη θεραπεία (N=28)	p**	p***
<b>CRP (mg/L)</b>	26 (1-134)	3 (1-7)	<0.001	4 (1-66)	<0.001	NS
<b>IL-1β (pg/mL)</b>	4.6 (3.0-152.7)	3.7 (3.0-197.8)	<0.001	3.5 (2.6-33.1)	<0.05	NS
<b>IL-6 (pg/mL)</b>	4.2 (0.3-101.8)	0.8 (0.5-8.6)	<0.01	2.7 (0.4-18.8)	<0.001	0.05
<b>TNFα (pg/mL)</b>	3.5 (0.8-35.0)	0.7 (0.1-9.3)	<0.05	3.5 (0.2-44.0)	NS	NS
<b>WBC (/μL)</b>	6356 ± 2099	6123 ± 1631	NS	6290 ± 1389	NS	NS
<b>NEUT (/μL)</b>	3554 ± 1516	3421 ± 1086	NS	3188 ± 1022	NS	NS
<b>LYMPH (/μL)</b>	2302 ± 1007	2177 ± 787	NS	2522 ± 838	NS	NS
<b>MONO (/μL)</b>	331 ± 136	343 ± 336	NS	296 ± 95	NS	NS

p\* Σύγκριση των τιμών των ασθενών με οξεία λοίμωξη με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου, p\*\* Σύγκριση των τιμών των ασθενών με οξεία λοίμωξη με τις αντίστοιχες τιμές 4 μήνες μετά τη θεραπεία, p\*\*\* Σύγκριση των τιμών των ασθενών 4 μήνες μετά τη θεραπεία με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου  
 CRP: C-reactive protein, C αντιδρώσα πρωτεΐνη, IL: interleukin, ιντερλευκίνη, TNFα: tumor necrosis factor α, παράγοντας νέκρωσης όγκων α, WBC: white blood cells, λευκά αιμοσφαίρια, NEUT: neutrophils, ουδετερόφιλα, LYMPH: lymphocytes, λεμφοκύτταρα, MONO: monocytes, μονοκύτταρα, NS = not significant

**Πίνακας 10.** Πολυπαραγοντική ανάλυση για την εκτίμηση της συγκέντρωσης της sdLDL-C (sdLDL%), καθώς και για την εκτίμηση της μέσης διαμέτρου των LDL σωματιδίων των ασθενών με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα

	sdLDL-C		LDL size	
	Beta	P	Beta	P
Sex (M/F)	-0.55	0.03	0.59	<0.001
TGs	0.59	0.02	-0.62	<0.001
IL-6	0.60	0.05	-0.48	0.05
TNFa	0.33	0.25	-0.1	0.69
CRP	-0.04	0.82	0.06	0.77

**Πίνακας 11.** Πολυπαραγοντική ανάλυση για την εκτίμηση της ενεργότητας της ολικής Lp-PLA<sub>2</sub> του πλάσματος των ασθενών με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα

	Total plasma Lp-PLA <sub>2</sub>		
	Beta	P	
Sex (M/F)	-0.15	0.52	
IL-6	0.03	0.93	
TNFa	-0.91	0.04	R <sup>2</sup> =0.83
CRP	-0.05	0.81	
LDL-C	0.70	0.03	
LDL size	-0.018	0.93	

### **Το λιπιδαιμικό προφίλ των ασθενών με οξεία λοίμωξη από τον ιό EBV (πίνακες 12,13)**

Οι ασθενείς με οξεία λοίμωξη από τον ιό EBV είχαν σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα TC, HDL-C, LDL-C, apoA1, apoB, Lp(a) και apoCIII σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης. Επιπλέον, στους ασθενείς με οξεία λοίμωξη από τον ιό EBV τα επίπεδα των TG, της VLDL-C και του λόγου apoB/apoA1 ήταν αυξημένα, ενώ τα επίπεδα της χοληστερόλης των μεγάλων LDL σωματιδίων, της apoE, της apoCII, καθώς και του λόγου LDL-C/HDL-C δεν διέφεραν σημαντικά σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές που παρατηρήθηκαν τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης. Επιπρόσθετα, στους ασθενείς με οξεία λοίμωξη από τον ιό EBV η μέση διάμετρος των LDL σωματιδίων ήταν σημαντικά μικρότερη, ενώ τα επίπεδα της sdLDL-C και η ποσοστιαία αναλογία της χοληστερόλης στα sdLDL (sdLDL-C%) ήταν αυξημένα σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης. Τέλος, σε αυτούς τους ασθενείς η ενεργότητα της CETP ήταν αυξημένη σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης.

Οι ασθενείς με οξεία λοίμωξη από τον ιό EBV είχαν χαμηλότερα επίπεδα TC, HDL-C, LDL-C, χοληστερόλης των μεγάλων LDL σωματιδίων, apoA1, apoB και apoCIII σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου. Αντίθετα, σε αυτούς τους ασθενείς σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου ο λόγος apoB/apoA1 και τα επίπεδα των TG και της apoE ήταν αυξημένα, ενώ δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές στα επίπεδα της apoCII και στο λόγο LDL-C/HDL-C. Επιπρόσθετα, στους ασθενείς με οξεία λοίμωξη από τον ιό EBV τα επίπεδα της sdLDL-C ήταν αυξημένα και η μέση διάμετρος των LDL σωματιδίων ήταν μικρότερη σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου. Ωστόσο, αυτές οι διαφορές δεν ήταν στατιστικά σημαντικές. Ακόμη, σε αυτούς τους ασθενείς η ενεργότητα της CETP ήταν αυξημένη σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου.

Τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης τα επίπεδα της TC, της LDL-C, της HDL-C, της χοληστερόλης των μεγάλων LDL σωματιδίων, της apoA1 και της apoB των ασθενών ήταν χαμηλότερα σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου. Αντίθετα, τα επίπεδα των TG, της VLDL-C, της apoE, της apoCII, της apoCIII και της Lp(a), η ενεργότητα της CETP, καθώς και οι λόγοι

apoB/apoAI και LDL-C/HDL-C δεν διέφεραν σημαντικά από τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου. Επιπλέον, δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφορές στο μέγεθος των LDL σωματιδίων, στα επίπεδα της sdLDL-C και στην ποσοστιαία αναλογία της χοληστερόλης των LDL σωματιδίων (sdLDL-C%) μεταξύ των ασθενών με οξεία λοίμωξη από τον ιό EBV και της ομάδας ελέγχου.

### **Οι κυτταροκίνες, η CRP και το αιματολογικό προφίλ των ασθενών με οξεία λοίμωξη από τον ιό EBV (πίνακας 14)**

Τα επίπεδα της CRP, των κυτταροκινών (IL-1β, IL-6, TNFα) και των λευκών αιμοσφαιρίων (WBC, white blood cells) ήταν αυξημένα στους ασθενείς με οξεία λοίμωξη από τον ιό EBV σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης. Ακόμη, αυτοί οι ασθενείς είχαν λεμφοκυττάρωση η οποία αποκαταστάθηκε τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης.

Επιπρόσθετα, τα επίπεδα των κυτταροκινών και της CRP ήταν υψηλότερα σε αυτούς τους ασθενείς σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου. Ωστόσο, δεν βρέθηκε σημαντική διαφορά στα επίπεδα των κυτταροκινών και της CRP στους ασθενείς τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου.

Στους ασθενείς με οξεία λοίμωξη από τον ιό EBV τα επίπεδα των TG, η sdLDL-C% και η μέση διάμετρος των LDL σωματιδίων συσχετίζονταν με τα επίπεδα της CRP ( $\rho=0.45$ ,  $p<0.01$ ,  $\rho=0.34$ ,  $p<0.03$  και  $\rho=-0.44$ ,  $p<0.03$  αντίστοιχα). Επιπρόσθετα, τα επίπεδα των TG αυτών των ασθενών συσχετίζονταν με τα επίπεδα της IL-1β ( $\rho=0.47$ ,  $p<0.03$ ), ενώ η LDL-C και ο λόγος apoB/apoAI δεν συσχετίζονταν με κανένα από τους παράγοντες που ευοδώνουν την φλεγμονή. Τα αυξημένα επίπεδα της LDL-C τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης συσχετίζονταν με τη μείωση των επιπέδων της IL-6 ( $\rho=0.54$ ,  $p=0.01$ ) **(εικόνα 14)**.

Τα επίπεδα της Lp(a) των ασθενών με οξεία λοίμωξη από τον ιό EBV δεν συσχετίζονταν με τα επίπεδα των κυτταροκινών και της CRP. Ωστόσο, η αύξηση των επιπέδων της Lp(a) τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης συσχετίζονταν με τη μείωση των επιπέδων του TNFα ( $\rho=0.54$ ,  $p<0.03$ ).

Επιπρόσθετα, η μείωση της sdLDL-C και της sdLDL-C% και η αύξηση του μεγέθους των LDL σωματιδίων, τέσσερις μήνες μετά τη διάγνωση συσχετιζόνταν με τη μείωση των επιπέδων του TNF $\alpha$  ( $\rho=0.48$ ,  $\rho=0.45$  και  $\rho=0.44$ , σε όλες τις περιπτώσεις  $p<0.03$ ) (**εικόνα 15**). Ακόμη, στους ασθενείς με οξεία λοίμωξη από τον ιό EBV δεν βρέθηκε συσχέτιση των επιπέδων του TNF $\alpha$  με την ενεργότητα της CETP. Επιπρόσθετα, σε αυτούς τους ασθενείς οι μεταβολές της CETP ( $\Delta$ CETP) δεν συσχετιζόνταν με τις μεταβολές του TNF $\alpha$  ( $\Delta$ TNF $\alpha$ ).

Τα επίπεδα της HDL-C των ασθενών με οξεία λοίμωξη δεν συσχετιζόνταν με τις τιμές των δεικτών φλεγμονής. Τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης, η αύξηση της HDL-C συσχετιζόνταν με τη μείωση των επιπέδων της IL-1 $\beta$  ( $\rho=0.61$ ,  $p<0.03$ ). Επιπρόσθετα, οι μεταβολές της ενεργότητας της CETP ( $\Delta$ CETP) συσχετιζόνταν αρνητικά με τις μεταβολές των επιπέδων της HDL-C ( $\Delta$ HDL-C) ( $r=-0.40$ ,  $p=0.02$ ).

#### **Οι ενεργότητες της Lp-PLA<sub>2</sub> και της PON1 (paraoxonase, aryylesterase) στους ασθενείς με οξεία λοίμωξη από τον ιό EBV (πίνακας 15)**

Τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές της ενεργότητας της ολικής Lp-PLA<sub>2</sub>, της ενεργότητας της HDL-Lp-PLA<sub>2</sub>, του λόγου total plasma Lp-PLA<sub>2</sub>/ApoB και των ενεργοτήτων της PON1 (paraoxonase και aryylesterase) σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές τους στην οξεία λοίμωξη. Επιπρόσθετα, δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές της ενεργότητας της ολικής Lp-PLA<sub>2</sub>, της ενεργότητας της HDL-Lp-PLA<sub>2</sub> και του λόγου total plasma Lp-PLA<sub>2</sub>/ApoB σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου. Η ενεργότητα της ολικής Lp-PLA<sub>2</sub>, η ενεργότητα της HDL-Lp-PLA<sub>2</sub> και ο λόγος total plasma Lp-PLA<sub>2</sub>/ApoB δεν συσχετιζόνταν με τις κυτταροκίνες που προσδιορίστηκαν. Οι ενεργότητες της PON1 (paraoxonase και aryylesterase) των ασθενών τόσο στην οξεία λοίμωξη, καθώς και τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης ήταν χαμηλότερες σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου (**εικόνες 16, 17**). Δεν βρέθηκαν συσχετίσεις της δραστηριότητας της PON1 (paraoxonase και aryylesterase) με τα επίπεδα των λιπιδίων και των κυτταροκινών.

**Πίνακας 12. Κλινικά χαρακτηριστικά και λιπιδαιμικό προφίλ της ομάδας ελέγχου και των ασθενών με λοίμωξη από τον ιό EBV**

	Ασθενείς με οξεία λοίμωξη (N=29)	Ομάδα ελέγχου (N=30)	p*	Ασθενείς 4 μήνες μετά τη θεραπεία (N=29)	p**	p***
<b>Age</b>	24.3±14.6	26.4±3.9	NS	-	-	-
<b>Sex (M/F)</b>	16/13	19/11	NS	-	-	-
<b>BMI (Kg/m<sup>2</sup>)</b>	26.3±4.2	26.2±4.5	NS	26.4±4.1	NS	NS
<b>Smokers (Yes/No)</b>	9/20	12/18	NS	-	-	-
<b>T-CHOL (mg/dL)</b>	139±37	211±42	<0.001	178±38	<0.001	<0.01
<b>HDL-C (mg/dL)</b>	29±10	59±9	<0.001	49±15	<0.001	<0.01
<b>TG (mg/dL)</b>	178 (70–300)	80 (39–318)	<0.001	93 (47–218)	<0.001	NS
<b>LDL-C (mg/dL)</b>	75±31	133±37	<0.001	108±32	<0.001	<0.03
<b>LDL-C/HDL-C</b>	2.6±0.8	2.3±0.7	NS	2.3±0.7	NS	NS

p\* Σύγκριση των τιμών των ασθενών με οξεία λοίμωξη με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου, p\*\* Σύγκριση των τιμών των ασθενών με οξεία λοίμωξη με τις αντίστοιχες τιμές 4 μήνες μετά τη θεραπεία, p\*\*\* Σύγκριση των τιμών των ασθενών 4 μήνες μετά τη θεραπεία με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου  
 BMI: body mass index, δείκτης μάζας σώματος, TC: total cholesterol, ολική χοληστερόλη, TG: triglycerides, τριγλυκερίδια, HDL-C: high-density lipoprotein cholesterol, χοληστερόλη των χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, LDL-C: low-density lipoprotein cholesterol, χοληστερόλη των υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, NS = not significant

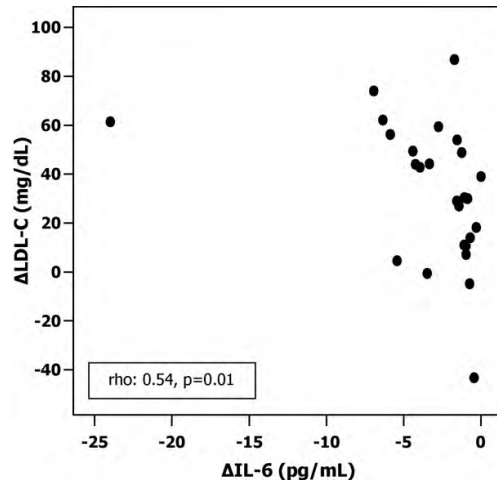


**Πίνακας 13. Ποσοτικές και ποιοτικές παράμετροι του μεταβολισμού των λιπιδίων της ομάδας ελέγχου και των ασθενών με λοίμωξη από τον ιό EBV**

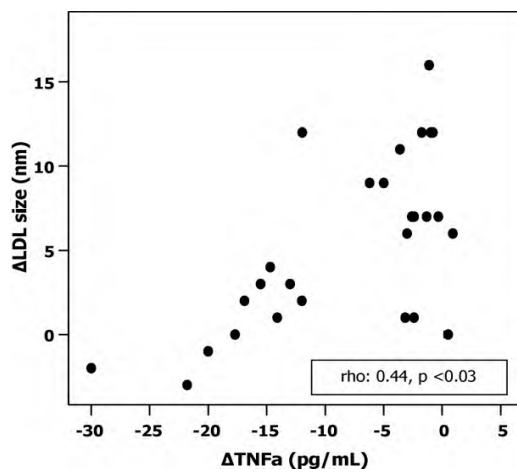
	Ασθενείς με οξεία Λοίμωξη (N=29)	Ομάδα ελέγχου (N=30)	p*	Ασθενείς 4 μήνες μετά τη θεραπεία (N=29)	p**	P***
apoAI (mg/dL)	79±22	157±20	<0.001	129±26	<0.001	<0.001
apoB (mg/dL)	86±26	139±28	<0.001	109±25	<0.01	<0.01
apoB/ApoAI	1.1±0.4	0.8±0.3	<0.01	0.8±0.3	<0.01	NS
apoE (mg/L)	48±19	36±7	0.01	39±14	NS	NS
apoCII (mg/dL)	2.5±0.7	2.4±9	NS	2.6±0.7	NS	NS
apoCIII (mg/dL)	4.7±1.8	7.8±3.1	<0.01	6.7±2.8	<0.05	NS
Lp(a) (mg/dL)	3.3 (2.4–41.6)	5.7 (2.4–50.0)	NS	6.7 (2.4–37.0)	<0.03	NS
CETP (nmol/ml/h)	184±82	162±64	0.03	167±92	0.03	NS
VLDL-C (mg/dL)	39 (18–56)	39 (16–123)	NS	32 (18–68)	<0.03	NS
Large LDL-C (mg/dL)	68.2±22.2	101±21	<0.001	78.3±23.5	NS	<0.01
sdLDL-C (mg/dL)	4 (0–30)	3 (0–27)	NS	2 (0–17)	<0.01	NS
LDL particle size (nm)	26.7±5.6	26.9±5.2	NS	27.1±3.1	<0.001	NS
sdLDL-C %	7 (0–43)	3 (0–17)	NS	1 (0–16)	<0.01	NS

p\* Σύγκριση των τιμών των ασθενών με οξεία λοίμωξη με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου, p\*\* Σύγκριση των τιμών των ασθενών με οξεία λοίμωξη με τις αντίστοιχες τιμές 4 μήνες μετά τη θεραπεία, p\*\*\* Σύγκριση των τιμών των ασθενών 4 μήνες μετά τη θεραπεία με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου  
apo: apolipoprotein, απολιποπρωτεΐνη Lp(a): lipoprotein (a), λιποπρωτεΐνη (α), CETP: cholesterol ester transfer protein, πρωτεΐνης μεταφοράς εστεροποιημένης χοληστερόλης, VLDL: very low density lipoprotein cholesterol, χοληστερόλη των πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, sdLDL-C: small dense LDL particle cholesterol, χοληστερόλη των μικρών πυκνών LDL, Large LDL-C: large LDL particle cholesterol, χοληστερόλη των μεγάλων LDL σωματιδίων, LDL particle size: μέγεθος LDL σωματιδίων, NS = not significant

**Εικόνα 14.** Η συσχέτιση της αύξησης των επιπέδων της LDL-C 4 μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης από τον ιό EBV με την ελάττωση των επιπέδων της IL-6



**Εικόνα 15.** Η συσχέτιση της αύξησης της μέσης διαμέτρου των LDL σωματιδίων 4 μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης από τον ιό EBV με την ελάττωση των επιπέδων του TNFa



**Πίνακας 14. Τα επίπεδα των κυτταροκινών και το αιματολογικό προφίλ της ομάδας ελέγχου και των ασθενών με λοίμωξη από τον ιό EBV**

	Ασθενείς με οξεία λοίμωξη (N=29)	Ομάδα ελέγχου (N=30)	p*	Ασθενείς 4 μήνες μετά τη θεραπεία (N=29)	p**	p***
<b>CRP (mg/L)</b>	11 (1-87)	1 (1-9)	<0.001	1 (1-3)	<0.001	NS
<b>IL-1β (pg/mL)</b>	10.0 (4.2-39.8)	5.3 (1.6-23.9)	<0.01	5.9 (2.9-47.9)	<0.03	NS
<b>IL-6 (pg/mL)</b>	4.1 (1.6-26.3)	2.9 (1.0-8.9)	<0.03	2.0 (1.1-6.6)	<0.001	NS
<b>TNFα (pg/mL)</b>	11.7 (2.8-56.7)	9.7 (2.4-19.6)	0.03	8.9 (3.1-29.7)	<0.01	NS
<b>WBC (μL)</b>	14413±5490	6499±2258	NS	7451±2056	<0.03	NS
<b>NEUT (μL)</b>	3045±1096	3591±1356	<0.001	4247±1873	<0.01	<0.001
<b>LYMPH (μL)</b>	6231±3689	2106±644	<0.001	2654±793	<0.01	NS
<b>MONO (μL)</b>	897±444	292±107	<0.001	353±117	<0.001	NS

p\* Σύγκριση των τιμών των ασθενών με οξεία λοίμωξη με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου, p\*\* Σύγκριση των τιμών των ασθενών με οξεία λοίμωξη με τις αντίστοιχες τιμές 4 μήνες μετά τη θεραπεία, p\*\*\* Σύγκριση των τιμών των ασθενών 4 μήνες μετά τη θεραπεία με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου

CRP: C-reactive protein, C αντιδρώσα πρωτεΐνη, IL: interleukin, ιντερλευκίνη, TNFα: tumor necrosis factor α, παράγοντας νέκρωσης όγκων α, WBC: white blood cells, λευκά αιμοσφαίρια, NEUT: neutrophils, ουδετερόφιλα, LYMPH: lymphocytes, λεμφοκύτταρα, MONO: monocytes, μονοκύτταρα, NS = not significant

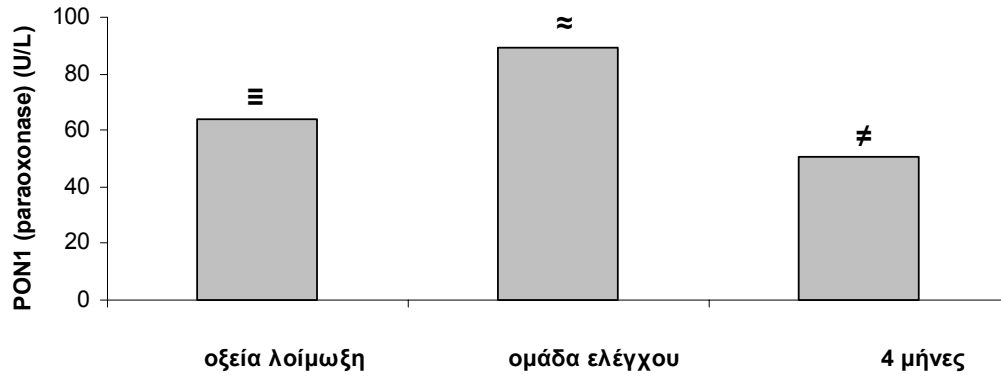
**Πίνακας 15. Οι ενεργότητες της Lp-PLA<sub>2</sub>, της PON1 (paraoxonase) και της PON1 (arylesterase) της ομάδας ελέγχου και των ασθενών με λοίμωξη από τον ιό EBV**

	Ασθενείς με οξεία λοίμωξη (N=29)	Ομάδα ελέγχου (N=30)	p*	Ασθενείς 4 μήνες μετά τη θεραπεία (N=29)	p**	p***
Total plasma Lp-PLA <sub>2</sub> (nmol/min/mL)	43.0±19.8	46.4±11.5	NS	39.2±18.2	NS	NS
HDL-Lp-PLA <sub>2</sub> (nmol/min/mL)	2.9±1.3	2.9±0.9	NS	3.1±1.2	NS	NS
Total plasma Lp-PLA <sub>2</sub> /ApoB (nmol/mg/min)	0.5±0.2	0.5±0.1	NS	0.5±0.2	NS	NS
PON1 (paraoxonase) (U/L)	63.9 (18.5–279.6)	89.5 (12.0–156.0)	<0.01	50.8 (28.1–182.0)	NS	<0.01
PON1 (arylesterase) (U/mL)	30.6±8.9	50.4±15.0	<0.01	28.3±7.6	NS	<0.01

p\* Σύγκριση των τιμών των ασθενών με οξεία λοίμωξη με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου, p\*\* Σύγκριση των τιμών των ασθενών με οξεία λοίμωξη με τις αντίστοιχες τιμές 4 μήνες μετά τη θεραπεία, p\*\*\* Σύγκριση των τιμών των ασθενών 4 μήνες μετά τη θεραπεία με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου

Lp-PLA<sub>2</sub>: lipoprotein-associated phospholipase A<sub>2</sub>, συσχετιζόμενη με λιποπρωτεΐνες φωσφολιπάση A<sub>2</sub>, PON1: paraoxonase 1, apo: apolipoprotein, HDL-C: high-density lipoprotein cholesterol, χοληστερόλη των χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, NS = not significant

**Εικόνα 16. Η ενεργότητα της PON1 (paraoxonase) σε ασθενείς με λοίμωξη από τον ιό EBV**



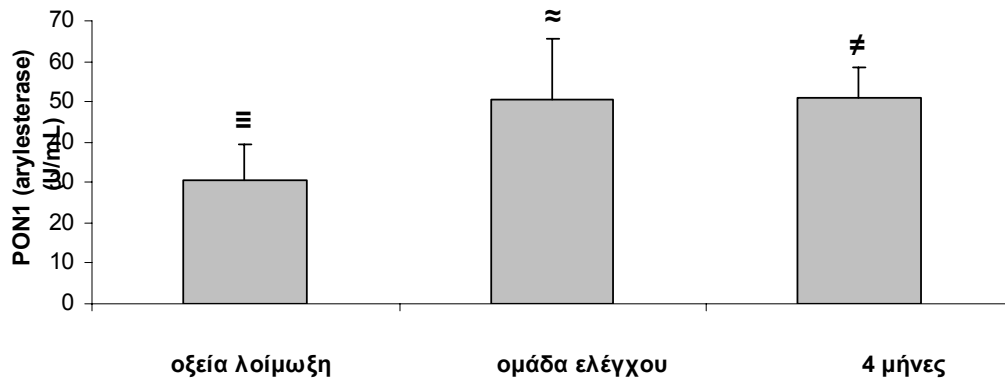
≡  $p < 0.01$  σε σύγκριση των τιμών των ασθενών με οξεία λοίμωξη με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου

≈  $p < 0.01$  σε σύγκριση των τιμών των ασθενών 4 μήνες μετά τη θεραπεία με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου

≠ NS σε σύγκριση των τιμών των ασθενών με οξεία λοίμωξη με τις αντίστοιχες τιμές 4 μήνες μετά τη θεραπεία

NS = not significant

**Εικόνα 17. Η ενεργότητα της PON1 (arylesterase) σε ασθενείς με λοίμωξη από τον ιό EBV**



≡  $p < 0.01$  σε σύγκριση των τιμών των ασθενών με οξεία λοίμωξη με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου

≈  $p < 0.01$  σε σύγκριση των τιμών των ασθενών 4 μήνες μετά τη θεραπεία με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου

≠ NS σε σύγκριση των τιμών των ασθενών με οξεία λοίμωξη με τις αντίστοιχες τιμές 4 μήνες μετά τη θεραπεία

NS = not significant

### **Το λιπιδαιμικό προφίλ των ασθενών με λεπτοσπείρωση (πίνακες 16,17)**

Οι ασθενείς με λεπτοσπείρωση σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου είχαν σημαντικά ελαττωμένα επίπεδα TC, HDL-C, LDL-C, apoA1 και Lp(a), αυξημένα επίπεδα TG και apoE, ενώ δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές των επιπέδων της apoB, της apoCII και της apoCIII, καθώς και της ενεργότητας της CETP μεταξύ των δύο ομάδων. Επιπρόσθετα, στους ασθενείς σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου η μέση διάμετρος των LDL σωματιδίων ήταν μικρότερη, η χοληστερόλη των sdLDL και των VLDL σωματιδίων υψηλότερη, η ποσοστιαία αναλογία της χοληστερόλης στα sdLDL σωματίδια (sdLDL-C%) μεγαλύτερη και η χοληστερόλη στα μεγάλα LDL σωματίδια μικρότερη. Επιπρόσθετα, οι λόγοι LDL-C/HDL-C και apoB/apoA1 ήταν σημαντικά αυξημένοι στους ασθενείς σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου.

Οι ασθενείς με λεπτοσπείρωση σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης είχαν χαμηλότερα επίπεδα TC, HDL-C, LDL-C, Lp(a) και apoA1, και υψηλότερα επίπεδα TG, apoE και VLDL-C. Επιπρόσθετα, στους ασθενείς με λεπτοσπείρωση τα επίπεδα της apoB, της apoCII και της apoCIII, καθώς και η ενεργότητα της CETP δεν διέφεραν σημαντικά από τις αντίστοιχες τιμές που παρατηρήθηκαν τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης. Σε αυτούς τους ασθενείς η μέση διάμετρος των LDL σωματιδίων ήταν μικρότερη, ενώ η χοληστερόλη των sdLDL σωματιδίων και η ποσοστιαία αναλογία της χοληστερόλης στα sdLDL σωματίδια (sdLDL-C%) ήταν υψηλότερη σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης. Εκτός από τα επίπεδα της HDL-C και της apoA1 οι άλλες παράμετροι που περιγράφηκαν παραπάνω, τέσσερις μήνες μετά την οξεία λοίμωξη επανήλθαν στα φυσιολογικά επίπεδα και δεν διέφεραν από τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου.

### **Η ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> και οι ενεργότητες της PON1 (paraoxonase, arylesterase) στους ασθενείς με λεπτοσπείρωση (πίνακας 18)**

Στους ασθενείς με λεπτοσπείρωση οι ενεργότητες της Lp-PLA<sub>2</sub> και της HDL-Lp-PLA<sub>2</sub> δεν διέφεραν από τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου. Ωστόσο, σε αυτούς τους ασθενείς οι ενεργότητες της Lp-PLA<sub>2</sub> και της HDL-Lp-PLA<sub>2</sub> αυξήθηκαν σημαντικά 4 μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης. Ακόμη, σε αυτούς τους ασθενείς οι ενεργότητες της Lp-PLA<sub>2</sub> και της HDL-Lp-PLA<sub>2</sub> τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης δεν διέφεραν σημαντικά από

τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου. Στους ασθενείς με λεπτοσπείρωση τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης οι ενεργότητες της PON1 (paraoxonase, arylesterase) δεν διέφεραν σημαντικά από τις αντίστοιχες τιμές των ασθενών με οξεία λοίμωξη αλλά ήταν χαμηλότερες από τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου.

### **Οι κυτταροκίνες και η CRP των ασθενών με λεπτοσπείρωση (πίνακας 19)**

Στους ασθενείς με λεπτοσπείρωση τα επίπεδα της CRP και των κυτταροκινών που προσδιορίστηκαν ήταν σημαντικά αυξημένα σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου. Σε αυτούς τους ασθενείς τα επίπεδα της CRP και των κυτταροκινών ελαττώθηκαν σημαντικά τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης. Ακόμη, τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης τα επίπεδα των κυτταροκινών και της CRP δεν διέφεραν σημαντικά από τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου με εξαίρεση τα επίπεδα του TNF $\alpha$ , τα οποία παρέμειναν αυξημένα.

### **Οι συσχετίσεις μεταξύ των λιπιδίων και των λιποπρωτεϊνών των ασθενών με λεπτοσπείρωση με τις κυτταροκίνες και τη CRP**

Στους ασθενείς με οξεία λοίμωξη τα επίπεδα της HDL-C συσχετίζονταν με τα επίπεδα της IL-1 $\beta$  (rho: -0.90,  $p < 0.05$ ) και του TNF $\alpha$  (rho: -0.66,  $p < 0.05$ ). Επιπρόσθετα, η αύξηση των επιπέδων της HDL-C συσχετίζονταν με την ελάττωση των επιπέδων του TNF $\alpha$  (rho: 0.47,  $p < 0.05$ ) και της CRP (rho: 0.65,  $p < 0.05$ ). Ακόμη, σε αυτούς τους ασθενείς τα επίπεδα των TG συσχετίζονταν θετικά με τα επίπεδα της IL-6 (rho: 0.84  $p < 0.001$ ) και της CRP (rho: 0.68,  $p < 0.05$ ), ενώ η ελάττωση των επιπέδων των TG συσχετίζονταν με την ελάττωση των επιπέδων της IL-6 και της CRP ( $\Delta$ IL-6 rho: 0.75,  $p < 0.01$ ,  $\Delta$ CRP rho: 0.66,  $p < 0.05$ ). Τα επίπεδα της LDL-C συσχετίζονταν αρνητικά με τα επίπεδα της IL-6 (rho: -0.66,  $p < 0.05$ ), του TNF $\alpha$  (rho: -0.63,  $p < 0.05$ ) και της CRP (rho: -0.56,  $p < 0.05$ ). Τα επίπεδα της apoE δεν συσχετίζονταν με κανένα από τους παράγοντες φλεγμονής, ενώ η ελάττωσή τους συσχετίζονταν με την ελάττωση των επιπέδων του TNF $\alpha$  (rho: 0.75,  $p < 0.05$ ).

Στους ασθενείς με λεπτοσπείρωση δεν βρέθηκε συσχέτιση των επιπέδων της Lp(a) με τα επίπεδα των κυτταροκινών και της CRP, ενώ τα επίπεδα της apoB συσχετίζονταν με τα επίπεδα της IL-6 (rho: -0.73,  $p < 0.01$ ) και της CRP (rho: -0.90,  $p < 0.001$ ). Ακόμη, τα επίπεδα της sdLDL-C συσχετίζονταν με την IL-1 $\beta$

(rho: 0.89,  $p < 0.05$ ), την IL-6 (rho: 0.60,  $p < 0.05$ ), τον TNF $\alpha$  (rho: 0.59,  $p < 0.05$ ) και την CRP (rho: 0.55,  $p < 0.05$ ), ενώ το μέγεθος των LDL σωματιδίων συσχετιζόνταν μόνο με τα επίπεδα της CRP (rho: -0.64,  $p < 0.05$ ). Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι η αύξηση της ενεργότητας της Lp-PLA<sub>2</sub> μετά την αποδρομή της λοίμωξης συσχετιζόνταν με την αύξηση των επιπέδων της LDL-C (rho: 0.45,  $p: 0.04$ ) και η αύξηση της ενεργότητας της HDL-Lp-PLA<sub>2</sub> με την αύξηση των επιπέδων της HDL-C (rho: 0.65,  $p: 0.03$ ).



**Πίνακας 16. Κλινικά χαρακτηριστικά και λιπιδαιμικό προφίλ της ομάδας ελέγχου και των ασθενών με λεπτοσπείρωση**

	Ασθενείς με οξεία λοιμώξη (N=11)	Ομάδα ελέγχου (N=11)	p*	Ασθενείς 4 μήνες μετά τη θεραπεία (N=11)	p**	p***
<b>Age</b>	49.5±8.4	47.5±9.6	NS	-	-	-
<b>Sex (M/F)</b>	10/1	10/1	NS	-	-	-
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>	26.3±4.2	26.7 ± 4.3	NS	26.4 ± 4.7	NS	NS
<b>Smokers (Yes/No)</b>	9/2	7/4	NS	-	-	-
<b>TC (mg/dL)</b>	145±49	223±29	<0.001	211±40	<0.01	NS
<b>HDL-C (mg/dL)</b>	17±7	57±10	<0.001	44±11	<0.001	0.01
<b>TGs (mg/dL)</b>	259 (131-614)	111 (45-209)	<0.001	122 (68-433)	<0.01	NS
<b>LDL-C (mg/dL)</b>	72±45	141±25	<0.001	140±35	0.01	NS
<b>LDL-C/HDL-C</b>	3.7 (1.6-9.2)	2.7 (1.5-3.1)	<0.01	3.1 (2.2-5.2)	0.5	<0.01

p\* Σύγκριση των τιμών των ασθενών με οξεία λοίμωξη με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου, p\*\* Σύγκριση των τιμών των ασθενών με οξεία λοίμωξη με τις αντίστοιχες τιμές 4 μήνες μετά τη θεραπεία, p\*\*\* Σύγκριση των τιμών των ασθενών 4 μήνες μετά τη θεραπεία με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου  
 BMI: body mass index, δείκτης μάζας σώματος, TC: total cholesterol, ολική χοληστερόλη, TG: triglycerides, τριγλυκερίδια, HDL-C: high-density lipoprotein cholesterol, χοληστερόλη των χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, LDL-C: low-density lipoprotein cholesterol, χοληστερόλη των υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, NS = not significant

**Πίνακας 17. Ποσοτικές και ποιοτικές παράμετροι του μεταβολισμού των λιπιδίων της ομάδας ελέγχου και των ασθενών με λεπτοσπειρωση**

	Ασθενείς με οξεία λοιμωξη (N=11)	Ομάδα ελέγχου (N=11)	p*	Ασθενείς 4 μήνες μετά τη θεραπεία (N=11)	p**	p***
apoA-I (mg/dL)	59±41	156±16	<0.001	128±50	<0.01	<0.03
apoB (mg/dL)	118±31	101±20	NS	95±26	NS	NS
apoB/apoA-I	2.7 (0.6-14.1)	0.7 (0.4-0.9)	<0.01	0.7 (0.4-2.4)	0.01	NS
apoE (mg/L)	103 (44-153)	35 (28-66)	<0.01	49 (35-68)	0.01	NS
apoC-II (mg/dL)	4.2 (1.8-14.3)	3.4 (0.7-4.7)	NS	3.4 (2.0-8.3)	NS	NS
apoC-III (mg/dL)	9.1 (3.3-14.1)	8.7 (3.0-11.3)	NS	7.8 (6.3-12.3)	NS	NS
Lp(a) (mg/dL)	2.4 (2.4-34.8)	8.8 (2.4-70.0)	0.02	7 (2.4-78.6)	0.03	NS
CETP activity (nmol/mL/h)	217±98	169±38	NS	234±109	NS	NS
VLDL-C (mg/dL)	45 (35-93)	33 (10-63)	NS	29 (20-52)	0.03	NS
Large LDL-C (mg/dL)	79±27	124±23	<0.001	116±31	0.01	NS
sdLDL-C (mg/dL)	8 (0-33)	5 (0-23)	0.04	4 (0-14)	0.03	NS
LDL particle size (nm)	26.1±5	26.9±3.6	<0.01	26.7±6	0.03	NS
sdLDL-C %	22 (0-33)	3 (0-13)	<0.01	3 (0-11)	0.01	NS

p\* Σύγκριση των τιμών των ασθενών με οξεία λοιμωξη με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου, p\*\* Σύγκριση των τιμών των ασθενών με οξεία λοιμωξη με τις αντίστοιχες τιμές 4 μήνες μετά τη θεραπεία, p\*\*\* Σύγκριση των τιμών των ασθενών 4 μήνες μετά τη θεραπεία με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου  
apo: apolipoprotein, απολιποπρωτεΐνη Lp(a): lipoprotein (a), λιποπρωτεΐνη (a), CESTP: cholesterol ester transfer protein, πρωτεΐνης μεταφοράς εστεροποιημένης χοληστερόλης, VLDL: very low density lipoprotein cholesterol, χοληστερόλη των πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, sdLDL-C: small dense LDL particle cholesterol, χοληστερόλη των μικρών πυκνών LDL, Large LDL-C: large LDL particle cholesterol, χοληστερόλη των μεγάλων LDL σωματιδίων, LDL particle size: μέγεθος LDL σωματιδίων, NS = not significant

**Πίνακας 18. Οι ενεργότητες της Lp-PLA<sub>2</sub>, της PON1 (paraoxonase) και της PON1 (arylesterase) της ομάδας ελέγχου και των ασθενών με λεπτοσπειρίωση**

	Ασθενείς με οξεία λοιμωξη (N=11)	Ομάδα ελέγχου (N=11)	p*	Ασθενείς 4 μήνες μετά τη θεραπεία (N=11)	p**	p***
Total plasma Lp-PLA <sub>2</sub> (nmol/min/mL)	45±16	52±10	NS	59±20	0.03	NS
Total plasma Lp-PLA <sub>2</sub> /ApoB (nmol/mg/min)	0.3 (0.2-1.2)	0.4 (0.2-0.7)	NS	0.6 (0.2-1.3)	NS	NS
HDL-Lp-PLA <sub>2</sub> (nmol/min/mL)	1.4±0.9	2.3±0.5	NS	2.4±1.0	0.03	NS
PON1 (paraoxonase) (U/L)	47.2 (18.9-106.8)	111.5 (43.6-240.7)	<0.01	48.2 (17.3-116.7)	NS	0.03
PON1 (arylesterase) (U/mL)	20.8±8.9	49.2±11.5	<0.001	26.3±7.3	NS	<0.001

p\* Σύγκριση των τιμών των ασθενών με οξεία λοίμωξη με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου, p\*\* Σύγκριση των τιμών των ασθενών με οξεία λοίμωξη με τις αντίστοιχες τιμές 4 μήνες μετά τη θεραπεία, p\*\*\* Σύγκριση των τιμών των ασθενών 4 μήνες μετά τη θεραπεία με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου  
Lp-PLA<sub>2</sub>: lipoprotein-associated phospholipase A<sub>2</sub>, συσχετιζόμενη με λιποπρωτεϊνικές φωσφολιπάση A2, PON1: paraoxonase 1, παραοξονάση 1, apo: apolipoprotein, HDL-C: high-density lipoprotein cholesterol, χοληστερόλη των χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, NS = not significant

**Πίνακας 19. Τα επίπεδα των κυτταροκινών και το αιματολογικό προφίλ της ομάδας ελέγχου και των ασθενών με λεπτοσπείρωση**

	Ασθενείς με οξεία λοιμωξη (N=11)	Ομάδα ελέγχου (N=11)	p*	Ασθενείς 4 μήνες μετά τη θεραπεία (N=11)	p**	p***
<b>CRP (mg/L)</b>	128 (29-325)	1 (1-2)	<0.01	2 (1-18)	<0.001	NS
<b>IL-1β (pg/mL)</b>	6.7 (3.7-16.9)	3.6 (3.0-35.4)	0.01	3.7 (3.6-5.5)	0.01	NS
<b>IL-6 (pg/mL)</b>	8.8 (2.5-58.4)	1.1 (0.6-64.0)	<0.01	2.7 (1.7-4.8)	0.01	NS
<b>TNFa (pg/mL)</b>	17.3 (10.0-39.0)	0.2 (0.1-17.5)	<0.001	4.2 (1.4-24.0)	0.03	0.01
<b>WBC (/μL)</b>	5043±432	5680±1008	NS	6440±1091	NS	NS
<b>NEUT (%WBC)</b>	84±6	59±4	<0.001	54±7	<0.001	NS
<b>LYMPH (%WBC)</b>	10±5	34±4	<0.001	38±5	<0.001	NS
<b>MONO (%WBC)</b>	6±1	4±2	NS	5±2	NS	NS

p\* Σύγκριση των τιμών των ασθενών με οξεία λοιμωξη με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου, p\*\* Σύγκριση των τιμών των ασθενών με οξεία λοιμωξη με τις αντίστοιχες τιμές 4 μήνες μετά τη θεραπεία, p\*\*\* Σύγκριση των τιμών των ασθενών 4 μήνες μετά τη θεραπεία με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου  
CRP: C-reactive protein, C αντιδρώσα πρωτεΐνη, IL: interleukin, ιντερλευκίνη, TNFa: tumor necrosis factor a, παράγοντας νέκρωσης όγκων a, WBC: white blood cells, λευκά αιμοσφαίρια, NEUT: neutrophils, ουδετερόφιλα, LYMPH: lymphocytes, λεμφοκύτταρα, MONO: monocytes, μονοκύτταρα, NS = not significant

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

*Η επίδραση των λοιμώξεων στα επίπεδα της TC και της LDL χοληστερόλης*

Στη μελέτη μας εκτιμήθηκε η επίδραση των λοιμώξεων στα επίπεδα της χοληστερόλης του ορού σε ασθενείς με οξεία λοίμωξη (βρουκέλλωση, λοιμώδη μονοπυρήνωση, λεπτοσπείρωση). Σε όλες τις ομάδες των ασθενών της μελέτης παρατηρήθηκε σημαντική μείωση των επιπέδων της TC και της LDL-C (**πίνακες 6, 12, 16**).

Τα αποτελέσματα της μελέτης μας συμφωνούν με τα αποτελέσματα πολλών μελετών που έδειξαν ότι η λοίμωξη/φλεγμονή διαμέσου των κυτταροκινών ελαττώνει τον αριθμό των LDL σωματιδίων και τα επίπεδα της ολικής και της LDL χοληστερόλης (**3.1.1.2 και 3.2.1/5**). Όπως περιγράφηκε αναλυτικά παραπάνω (**3.2.1/5**), η δραστηριότητα των υποδοχέων των LDL (LDL-R) είναι ένας ουσιαστικός ρυθμιστικός παράγοντας των επιπέδων των LDL σωματιδίων στο πλάσμα. Περισσότερο από τα 2/3 των LDL-R βρίσκονται στο ήπαρ και επηρεάζουν την πρόσληψη των LDL σωματιδίων από τα κύτταρα, με αποτέλεσμα την ελάττωση των LDL σωματιδίων και της LDL-C στο πλάσμα. Η ρύθμιση της έκφρασης του γονιδίου των LDL-R στο επίπεδο της μεταγραφής εξαρτάται από την ενδοκυττάρια συγκέντρωση στερολών. Επιπρόσθετα, πολλές κυτταροκίνες [TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , oncostatin M, (OM)], επάγουν την έκφραση των LDL-R. Πρέπει να αναφερθεί ότι ο TNF $\alpha$  και η IL-1 $\beta$  αυξάνουν την έκφραση των LDL-R υποδοχέων μόνο όταν υπάρχει ενδοκυττάρια ένδεια στερολών. Αντίθετα, η OM και η IL-6 επάγει την έκφραση των LDL-R ανεξάρτητα από τα επίπεδα των ενδοκυττάρων στερολών. Πιθανά η IL-6 επιδρά άμεσα στον προαγωγό του γονιδίου των LDL-R.

Τα αποτελέσματα της μελέτης μας όσον αφορά τον ουσιαστικό ρόλο της IL-6 στη μείωση των επιπέδων της LDL-C συμφωνούν με τα βιβλιογραφικά δεδομένα. Πράγματι, δείξαμε ότι στους ασθενείς με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα τα επίπεδα της LDL-C συσχετίζονταν αρνητικά με τα επίπεδα της IL-6. Επιπρόσθετα, στους ασθενείς με οξεία λοίμωξη από τον ιό EBV η αύξηση των επιπέδων της LDL-C τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης συσχετίζονταν με την ελάττωση των επιπέδων της IL-6 (**εικόνα 14**). Οι ασθενείς με λεπτοσπείρωση είχαν χαμηλά επίπεδα LDL-C τα οποία συσχετίζονταν αρνητικά με τα επίπεδα της IL-6. Επιπρόσθετα, σε αυτούς τους

ασθενείς τα επίπεδα της LDL-C συσχετίζονταν αρνητικά με τα επίπεδα του TNFα και της CRP.

Ένας άλλος μηχανισμός που συνεισφέρει στην ελάττωση της LDL-C είναι η μείωση του αριθμού των LDL σωματιδίων εξαιτίας της σημαντικής μείωσης της έκκρισης της apoB από τα ηπατοκύτταρα που οφείλεται στην επίδραση των κυτταροκινών **(5.2)**. Στη μελέτη μας διαπιστώσαμε ότι τα επίπεδα της apoB ήταν μειωμένα στους ασθενείς με βρουκέλλωση και λοιμώδη μονοπυρήνωση. Η επίδραση των λοιμώξεων στις απολιποπρωτεΐνες και οι αντίστοιχες συσχετίσεις με τις κυτταροκίνες περιγράφονται αναλυτικά στο αντίστοιχο κεφάλαιο παρακάτω.

#### *Η επίδραση των λοιμώξεων στα επίπεδα της HDL χοληστερόλης*

Τα επίπεδα της HDL-C ήταν χαμηλότερα σε όλες τις ομάδες ασθενών της μελέτης σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με τα βιβλιογραφικά δεδομένα. Πράγματι, μελέτες έδειξαν ότι οι λοιμώξεις έχουν ως αποτέλεσμα την ελάττωση της παραγωγής, καθώς και την επιτάχυνση του καταβολισμού των HDL σωματιδίων εξαιτίας της επίδρασης των κυτταροκινών **(4.2.3)**.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης μας στους ασθενείς με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα τα επίπεδα της HDL-C συσχετίζονταν αρνητικά με την IL-6. Επιπρόσθετα, αυτοί οι ασθενείς είχαν χαμηλά επίπεδα apoAI και τα επίπεδα της apoAI συσχετίζονταν αρνητικά με τα επίπεδα της IL-6 και της CRP. Η apoAI συντίθεται κυρίως στο ήπαρ και αποτελεί ουσιαστικό συστατικό των HDL σωματιδίων. Η μείωση των επιπέδων της apoAI οφείλεται στην ελάττωση της παραγωγής της από το ήπαρ πιθανά εξαιτίας της άμεσης επίδρασης των κυτταροκινών. Επιπρόσθετα, όπως αναφέρθηκε παραπάνω **(4.2.3)**, σε καταστάσεις λοίμωξης/φλεγμονής το SAA εκτοπίζει και αντικαθιστά την apoAI στα HDL σωματίδια με αποτέλεσμα την επιτάχυνση της κάθαρσης των HDL σωματιδίων και της apoAI. Πρέπει επίσης να αναφερθεί ότι στους ασθενείς με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα η ενεργότητα της CETP ήταν αυξημένη. Επιπρόσθετα, η αρνητική συσχέτιση μεταξύ των μεταβολών της ενεργότητας της CETP (ΔCETP) και των μεταβολών των επιπέδων της HDL-C (ΔHDL-C) υποδηλώνει ότι η αύξηση της ενεργότητας της CETP στην οξεία λοίμωξη συνεισέφερε στην ελάττωση των επιπέδων της HDL-C. Ωστόσο, δεν

βρέθηκε συσχέτιση των μεταβολών της ενεργότητας της CETP (ΔCETP) και των μεταβολών των επιπέδων των κυτταροκινών που προσδιορίστηκαν. Οι υποκείμενοι μηχανισμοί της αύξησης της ενεργότητας της CETP στους ασθενείς με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα δεν έχουν αποσαφηνισθεί.

Οι ασθενείς με λοίμωξη από τον ιό EBV είχαν χαμηλά επίπεδα apoA1 και υψηλή ενεργότητα CETP. Σε αυτούς τους ασθενείς της μελέτης δεν βρέθηκε συσχέτιση της HDL-C και της apoA1 με τις κυτταροκίνες που προσδιορίστηκαν και τη CRP. Ωστόσο, η αύξηση της HDL-C κατά την αποδρομή της λοίμωξης συσχετιζόταν με τη μείωση των επιπέδων της IL-1β. Επιπρόσθετα, οι μεταβολές της ενεργότητας της CETP (ΔCETP) συσχετιζόταν αρνητικά με τις μεταβολές των επιπέδων της HDL-C (ΔHDL-C). Τα δεδομένα αυτά υποδηλώνουν ότι η αύξηση της ενεργότητας της CETP στους ασθενείς με οξεία λοίμωξη από τον ιό EBV πιθανά συνεισέφερε στην ελάττωση των επιπέδων της HDL-C. Πρέπει ωστόσο να αναφερθεί ότι και σε αυτή την περίπτωση, όπως και στη βρουκέλλωση, δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση της ενεργότητας της CETP με τις κυτταροκίνες που προσδιορίστηκαν.

Στους ασθενείς με λεπτοσπείρωση υπήρχε αρνητική συσχέτιση της HDL-C με τα επίπεδα της IL-1β, ενώ η αύξηση των επιπέδων της HDL-C συσχετιζόταν με την ελάττωση των επιπέδων του TNFα. Ωστόσο, τα επίπεδα της apoA1 ήταν χαμηλά και δεν υπήρχε συσχέτισή τους με τα επίπεδα των κυτταροκινών που προσδιορίστηκαν. Η ενεργότητα της CETP στους ασθενείς με λεπτοσπείρωση δεν ήταν διαφορετική σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης, ενώ επίσης δεν διέφερε σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου.

#### *Η επίδραση των λοιμώξεων στις απολιποπρωτεΐνες*

Σε ορισμένες περιπτώσεις στη μελέτη μας βρέθηκαν σημαντικές μεταβολές στα επίπεδα των απολιποπρωτεϊνών και της Lp(a) στους ασθενείς με οξεία λοίμωξη και μελετήθηκαν οι πιθανές συσχετίσεις αυτών των μεταβολών με τις κυτταροκίνες. Στους ασθενείς με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα τα επίπεδα της apoA1, της apoB και της apoCIII ήταν μειωμένα σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές μετά την αποδρομή της λοίμωξης. Σε αυτή την ομάδα ασθενών παρατηρήθηκε αρνητική συσχέτιση της apoB και της apoA1 με τα επίπεδα της

IL-6 ( $r=-0.39$ ,  $p<0.05$  και  $r=-0.42$ ,  $p<0.05$  αντίστοιχα). Επιπρόσθετα, υπήρχε αρνητική συσχέτιση της apoAI με την CRP ( $r=-0.49$ ,  $p<0.05$ ).

Στους ασθενείς με οξεία λοίμωξη από τον ιό EBV τα επίπεδα της apoAI, της apoB, της apoCIII και της Lp(a) ήταν μειωμένα σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές μετά την αποδρομή της λοίμωξης. Σε αυτούς τους ασθενείς οι απολιποπρωτεΐνες που μελετήθηκαν και τα επίπεδα της Lp(a) δεν συσχετιζόνταν με τα επίπεδα των κυτταροκινών και τη CRP. Ωστόσο, η αύξηση των επιπέδων της Lp(a) τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης συσχετιζόνταν με τη μείωση των επιπέδων του TNF $\alpha$  ( $r=0.54$ ,  $p<0.03$ ).

Οι ασθενείς με λεπτοσπείρωση είχαν χαμηλά επίπεδα apoAI, ενώ τα επίπεδα της apoE ήταν αυξημένα σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Σε αυτούς τους ασθενείς τα επίπεδα της apoE δεν συσχετιζόνταν με τους δείκτες φλεγμονής. Ωστόσο, η ελάττωση των επιπέδων της apoE ( $\Delta$ apoE) μετά την αποδρομή της λοίμωξης συσχετιζόνταν με τη μείωση των επιπέδων του TNF $\alpha$  ( $\Delta$ TNF $\alpha$ ) ( $r=0.75$ ,  $p<0.05$ ). Στους ασθενείς με λεπτοσπείρωση τα επίπεδα της Lp(a) ήταν χαμηλά σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές μετά την αποδρομή της λοίμωξης. Ωστόσο, δεν βρέθηκαν συσχετίσεις των χαμηλών επιπέδων της Lp(a) με τα επίπεδα του TNF $\alpha$  ή με τα επίπεδα των άλλων κυτταροκινών που προσδιορίστηκαν.

Η μείωση των επιπέδων της apoA και της apoB οφείλεται στην ελάττωση της παραγωγής τους από το ήπαρ εξαιτίας της άμεσης επίδρασης των κυτταροκινών (**5.1**, **5.2**). Λίγες μελέτες υπάρχουν σχετικά με την επίδραση της λοίμωξης στις apoCs και οι μηχανισμοί που προκαλούν τις μεταβολές τους σε οξείες λοιμώξεις δεν έχουν πλήρως διευκρινισθεί (**5.4**). Επιπρόσθετα, πολλές μελέτες έδειξαν ότι η Lp(a) είναι μια θετική πρωτεΐνη οξείας φάσης, άλλες μελέτες έδειξαν ότι η Lp(a) είναι αρνητική πρωτεΐνη οξείας φάσης, ενώ άλλες μελέτες δεν έδειξαν μεταβολές των επιπέδων της Lp(a) σε καταστάσεις λοίμωξης/φλεγμονής (**3.2.2**). Η παραγωγή της Lp(a) εξαρτάται από την ποσότητα της διαθέσιμης apo(a) που παράγεται στο ήπαρ. Άλλες κυτταροκίνες ευοδώνουν (IL-6) και άλλες κυτταροκίνες καταστέλλουν (TGF $\beta$ 1, TNF $\alpha$ ) την έκφραση του γονιδίου που κωδικοποιεί την apo(a) και αυξάνουν ή ελαττώνουν αντίστοιχα την παραγωγή της στο ήπαρ (**3.2.2**). Η συσχέτιση της αύξησης της Lp(a) με την ελάττωση των επιπέδων του TNF $\alpha$  στους ασθενείς



με λοίμωξη από τον ιό EBV, συμφωνεί με τα βιβλιογραφικά δεδομένα και θα μπορούσε να ερμηνευθεί με αυτό τον μηχανισμό.

Οι μελέτες για τις μεταβολές των επιπέδων της apoE στις λοιμώξεις έδειξαν επίσης αντίθετα αποτελέσματα **(5.3)**. Άλλες μελέτες έδειξαν ότι η apoE αυξάνεται επειδή ελαττώνεται η κάθαρσή της από το πλάσμα και άλλες ότι ελαττώνεται επειδή καταστέλλεται η παραγωγή της. Πιθανά, το τελικό αποτέλεσμα (αύξηση ή ελάττωση) των επιπέδων της apoE στο πλάσμα εξαρτάται από το εάν η πιο ισχυρή επίδραση σε κάθε περίπτωση είναι η καταστολή της παραγωγής ή η ελάττωση της κάθαρσης της apoE. Στη μελέτη μας στους ασθενείς με λεπτοσπείρωση τα επίπεδα της apoE αυξήθηκαν σημαντικά.

#### *Η επίδραση των λοιμώξεων στα τριγλυκερίδια του ορού*

Παλαιότερες μελέτες όσον αφορά την υπερτριγλυκεριδαμία στις λοιμώξεις περιγράφονται αναλυτικά παραπάνω **(κεφάλαιο 2)** και επικεντρώνονται στους μηχανισμούς με τους οποίους οι παράγοντες που ευοδώνουν τη φλεγμονή αυξάνουν τα διαθέσιμα ελεύθερα λιπαρά οξέα στο ήπαρ για εστεροποίηση με αποτέλεσμα το σχηματισμό των TG που τελικά εκκρίνονται στην κυκλοφορία ως VLDL σωματίδια. Ακόμη, υπάρχουν αρκετές ενδείξεις ότι οι κυτταροκίνες δεν επηρεάζουν σημαντικά τα ένζυμα που συσχετίζονται με τη σύνθεση των TG από τα ελεύθερα λιπαρά οξέα. Πρέπει επίσης να υπογραμμισθεί ότι οι μηχανισμοί που ελαττώνουν την κάθαρση των VLDL σωματιδίων συμμετέχουν σε μικρότερο βαθμό στην υπερτριγλυκεριδαμία των λοιμώξεων **(2.1.2)**. Πρόσφατες μελέτες in vitro έδειξαν ότι ο TNF μειώνει την ενεργότητα της LPL σε καλλιέργειες λιποκυττάρων. Επιπρόσθετα, η IL-1, η IL-6, ο LIF και ο TNF μειώνουν την ενεργότητα της LPL in vivo σε λιπώδη ιστό ποντικών μετά από πολλές ώρες από την έγχυσή τους. Ωστόσο, ενώ οι κυτταροκίνες (πχ ο TNF) ελαττώνουν την ενεργότητα της LPL μετά από αρκετές ώρες από την έγχυσή τους, η αύξηση των TG παρατηρείται πολύ γρήγορα **(2.1.2)**.

Στους ασθενείς της μελέτης μας σε ορισμένες περιπτώσεις τα επίπεδα των TG του ορού αυξήθηκαν σημαντικά.

Στους ασθενείς με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα τα επίπεδα των TG του ορού δεν ήταν υψηλότερα σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου.

Εντούτοις, σε αυτούς τους ασθενείς υπήρχε θετική συσχέτιση μεταξύ των TG του ορού και της CRP ( $r=0.42$ ,  $p<0.05$ ).

Στους ασθενείς με οξεία λοίμωξη από τον ιό EBV τα επίπεδα των TG ήταν αυξημένα και συσχετιζόνταν με τα επίπεδα της CRP ( $r=0.45$ ,  $p<0.01$ ) και της IL-1 $\beta$  ( $r=0.47$ ,  $p<0.03$ ).

Τα αυξημένα επίπεδα των TG του ορού στους ασθενείς με λεπτοσπείρωση συσχετιζόνταν με τα υψηλά επίπεδα της CRP και της IL-6 και η ελάττωση των επιπέδων τους ακολουθεί τη μείωση των επιπέδων των κυτταροκινών. Επιπρόσθετα, οι ασθενείς με λεπτοσπείρωση είχαν αυξημένα επίπεδα apoE και η ελάττωση των επιπέδων της apoE ( $\Delta$ apoE) μετά την αποδρομή της λοίμωξης συσχετιζόνταν με τη μείωση των επιπέδων του TNFa ( $\Delta$ TNFa) ( $r=0.75$ ,  $p<0.05$ ). Η διατήρηση των επιπέδων της apoE σε φυσιολογικά επίπεδα είναι σημαντική για το μεταβολισμό των πλούσιων σε TG λιποπρωτεϊνών<sup>641</sup>. Πράγματι, όταν τα επίπεδα της apoE είναι χαμηλά παρεμποδίζεται η απομάκρυνση των πλούσιων σε TG λιποπρωτεϊνών από το πλάσμα. Αντίθετα, τα υψηλά επίπεδα apoE διεγείρουν την παραγωγή των VLDL σωματιδίων από το ήπαρ και αναστέλλουν τη λιπόλυση διαμέσου της LPL με αποτέλεσμα την εμφάνιση υπερτριγλυκεριδαιμίας<sup>642</sup>. Έτσι, τα αυξημένα επίπεδα της apoE στους ασθενείς με λεπτοσπείρωση πιθανά συνεισφέρουν στην υπερτριγλυκεριδαιμία αυτών των ασθενών.

Επιπρόσθετα, στη μελέτη μας προσδιορίσαμε τα επίπεδα της apoCII και της apoCIII. Η apoCII ενεργοποιεί την LPL και είναι απαραίτητη για την λιπόλυση των πλούσιων σε TG λιποπρωτεϊνών. Σε περίπτωση έλλειψης της apoCII παρεμποδίζεται η λιπολυτική δράση της LPL στις πλούσιες σε TG λιποπρωτεΐνες με αποτέλεσμα την αύξηση των TG του ορού (**5.4**). Η apoCIII αναστέλλει τη λιπόλυση των πλούσιων σε TG λιποπρωτεϊνών επειδή παρεμποδίζει την αλληλεπίδρασή τους με τις πρωτεογλυκάνες της LPL. Έτσι, οι πλούσιες σε TG λιποπρωτεΐνες συσσωρεύονται στο πλάσμα και τα TG του ορού αυξάνονται (**5.4**). Ωστόσο, υπάρχουν λίγες ενδείξεις ότι η αύξηση των TG που οφείλεται στην επίδραση των κυτταροκινών οφείλεται στη μειωμένη ενεργότητα της LPL *in vivo* (**2.1.2**). Τα αποτελέσματα της μελέτης μας συμφωνούν με τα βιβλιογραφικά δεδομένα. Πράγματι, δεν βρέθηκε καμιά μεταβολή της apoCII στους ασθενείς της μελέτης. Ακόμη, η apoCIII ήταν ελαττωμένη στους ασθενείς με βρουκέλλωση και λοιμώδη μονοπυρήνωση.

Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι η αναμενόμενη επίδραση της ελάττωσης της apoCIII στα TG του ορού είναι η ελάττωση και όχι η αύξηση τους.

#### *Η επίδραση των λοιμώξεων στα υποκλάσματα της LDL*

Όπως περιγράφηκε παραπάνω (7.1) σε άτομα με υπερτριγλυκεριδαιμία αυξάνεται η μεταφορά TG από τις πλούσιες σε TG λιποπρωτεΐνες (VLDL και χυλομικρά) στις LDL (που είναι πτωχές σε TG) και η μεταφορά εστέρων χοληστερόλης από τις LDL στις πλούσιες σε TG λιποπρωτεΐνες (που είναι πτωχές σε χοληστερόλη). Η μετακίνηση αυτή των λιπιδίων γίνεται με τη δράση της CETP και οδηγεί στο σχηματισμό πλούσιων σε TG και πτωχών σε χοληστερόλη LDL σωματιδίων. Τα TG αυτών των LDL στη συνέχεια υδρολύονται από την HL με τελικό αποτέλεσμα το σχηματισμό των sdLDL σωματιδίων. Ο ρυθμός αυτής της ανταλλαγής καθορίζεται από τη συγκέντρωση των πλούσιων σε TG λιποπρωτεϊνών και έτσι ασθενείς με αυξημένα TG στον ορό συνήθως εμφανίζουν αυξημένα επίπεδα sdLDL σωματιδίων. Λίγα δεδομένα υπάρχουν στη βιβλιογραφία σχετικά με την επίδραση της λοίμωξης/φλεγμονής στα υποκλάσματα των LDL. Μελέτες έδειξαν ότι ασθενείς με περιοδοντίτιδα και HIV λοίμωξη έχουν περισσότερα sdLDL σωματίδια (7.4). Ακόμη, αυτές οι μελέτες έδειξαν ότι η αύξηση των TG που προκαλούν οι λοιμώξεις έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση των sdLDL σωματιδίων.

Ωστόσο, οι ασθενείς με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα δεν είχαν αυξημένα επίπεδα TG στον ορό, ενώ είχαν υψηλότερη συγκέντρωση χοληστερόλης των sdLDL σωματιδίων. Συγκεκριμένα, οι ασθενείς με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα είχαν αυξημένα επίπεδα sdLDL-C και μικρότερο μέγεθος των LDL σωματιδίων, ενώ τα επίπεδα της χοληστερόλης των μεγάλων LDL σωματιδίων ήταν ελαττωμένα σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου. Η πολυπαραγοντική ανάλυση (multiple regression analysis) των παραμέτρων που συσχετιζόνταν σημαντικά με τη συγκέντρωση της sdLDL-C και το μέγεθος των LDL σωματιδίων στη μονοπαραγοντική ανάλυση (univariate regression analysis) έδειξε ότι το φύλο, τα TG και η συγκέντρωση της IL-6 ήταν οι καλύτεροι προγνωστικοί δείκτες για την παρουσία των sdLDL σωματιδίων στο πλάσμα (πίνακας 10). Πρέπει να αναφερθεί ότι τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης τα επίπεδα της χοληστερόλης και το

μέγεθος των sdLDL σωματιδίων δεν μεταβλήθηκαν σημαντικά σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές των ασθενών που παρατηρήθηκαν στην οξεία λοίμωξη, ενώ αυξήθηκαν σημαντικά τα επίπεδα της χοληστερόλης των μεγάλων LDL σωματιδίων.

Έτσι, σε αυτούς τους ασθενείς κάποιος άλλος μηχανισμός, εκτός από την υπερτριγλυκεριδαιμία είναι υπεύθυνος για την αύξηση των sdLDL σωματιδίων.

Μια πιθανή εξήγηση μπορεί να είναι η συσχέτιση της sdLDL-C με την IL-6. Σε αυτούς τους ασθενείς τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης η IL-6 ελαττώθηκε σημαντικά, ωστόσο, τα επίπεδα της IL-6 δεν επανήλθαν στα επίπεδα της ομάδας ελέγχου (**πίνακας 9**). Η διαπίστωση ότι η IL-6 ελαττώθηκε αλλά δεν έφτασε τα επίπεδα της ομάδας ελέγχου μπορεί να εξηγήσει το γεγονός ότι η αύξηση των sdLDL παραμένει τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης. Ο ρόλος της IL-6 στην αύξηση των sdLDL σωματιδίων στους ασθενείς με βρουκέλλωση δεν έχει διευκρινισθεί. Μια πιθανή εξήγηση είναι ότι η IL-6 μπορεί να επηρεάσει τη δραστηριότητα της CETP και τη HL. Ωστόσο, πρέπει να σημειωθεί ότι δεν βρέθηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ των μεταβολών της ενεργότητας της CETP ( $\Delta$ CETP) και των μεταβολών των επιπέδων της IL-6 ( $\Delta$ IL-6). Επιπρόσθετα, η HL δεν προσδιορίστηκε στην παρούσα μελέτη.

Οι ασθενείς με οξεία λοίμωξη από τον ιό EBV είχαν αυξημένα επίπεδα sdLDL-C και μικρότερο μέγεθος LDL σωματιδίων σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης. Ωστόσο, δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφορές με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου πιθανά εξαιτίας των μικρών μεταβολών αυτών των παραμέτρων και του μικρού αριθμού του δείγματος.

Στη μελέτη μας, στους ασθενείς με οξεία λοίμωξη από τον ιό EBV η μέση τιμή των TG υπερβαίνει την τιμή των 130mg/dL που συσχετίζεται με την παρουσία των sdLDL σωματιδίων<sup>643</sup>. Τα αποτελέσματα της μελέτης μας συμφωνούν με τα βιβλιογραφικά δεδομένα σχετικά με την αύξηση των sdLDL σωματιδίων εξαιτίας της υπερτριγλυκεριδαιμίας που προκαλούν οι λοιμώξεις.

Ακόμη, οι μεταβολές των επιπέδων της sdLDL-C, της sdLDL% και του μεγέθους των LDL σωματιδίων συσχετίζονταν με την ελάττωση των επιπέδων του TNF $\alpha$ . Είναι γνωστό ότι ο TNF $\alpha$  αυξάνει τα τριγλυκερίδια του ορού.

Ωστόσο, δεν βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ του TNF $\alpha$  και των επιπέδων των TG, ένα γεγονός που υποδηλώνει ότι ο TNF $\alpha$  επιδρά άμεσα στα sdLDL σωματίδια. Ακόμη, η επίδραση αυτή του TNF $\alpha$  στα sdLDL σωματίδια στους ασθενείς με οξεία λοίμωξη από τον ιό EBV δεν συσχετίζονταν με την αύξηση των επιπέδων της CETP (δεν βρέθηκε συσχέτιση του TNF $\alpha$  και της CETP, καθώς και των μεταβολών της CETP τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης με τις μεταβολές του TNF $\alpha$ ). Έτσι, οι υποκείμενοι μηχανισμοί της αύξησης των sdLDL στους ασθενείς με οξεία λοίμωξη από τον ιό EBV δεν έχουν αποσαφηνισθεί.

Στη μελέτη μας οι ασθενείς με λεπτοσπείρωση είχαν υψηλή συγκέντρωση χοληστερόλης στα sdLDL σωματίδια. Σε αυτούς τους ασθενείς της μελέτης το μικρό μέγεθος των LDL σωματιδίων μπορεί να ερμηνευθεί από την σημαντική αύξηση των επιπέδων των TG. Στους ασθενείς με λεπτοσπείρωση τα επίπεδα της VLDL-C είναι αυξημένα, ενώ τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων συσχετίζονταν με τα επίπεδα της IL-6 και της CRP. Πράγματι, όπως έχει ήδη αναφερθεί οι παράγοντες που ευοδώνουν τη φλεγμονή αυξάνουν τα διαθέσιμα ελεύθερα λιπαρά οξέα στο ήπαρ για εστεροποίηση με αποτέλεσμα το σχηματισμό των TG που τελικά εκκρίνονται στην κυκλοφορία με τα VLDL σωματίδια.

Ωστόσο, σε αυτούς τους ασθενείς τα επίπεδα της sdLDL-C δεν συσχετίζονταν με τις κυτταροκίνες που προσδιορίστηκαν (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF $\alpha$ , CRP), ένα γεγονός που υποδηλώνει ότι σε αυτούς τους ασθενείς πιθανά κάποιος άλλος μηχανισμός, εκτός από την υπερτριγλυκεριδαιμία είναι υπεύθυνος για την αύξηση των sdLDL σωματιδίων. Αυτοί οι επιπρόσθετοι μηχανισμοί όπως και στις άλλες ομάδες των ασθενών της μελέτης δεν έχουν διευκρινιστεί. Ακόμη, η αύξηση της ενεργότητας της CETP σε αυτούς τους ασθενείς δεν ήταν σημαντική και η μείωση της ( $\Delta$ CETP) δεν συσχετίζονταν με την ελάττωση των επιπέδων των κυτταροκινών.

### *Η επίδραση των λοιμώξεων στην Lp-PLA<sub>2</sub>*

Λίγες μελέτες έγιναν προκειμένου να εκτιμηθούν οι μεταβολές της Lp-PLA<sub>2</sub> σε οξεία λοίμωξη και όπως φαίνεται στον **πίνακα 2** προέκυψαν αντίθετα αποτελέσματα (**8.4.1**). Στη μελέτη μας στους ασθενείς με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα η ολική ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> και η ενεργότητα της HDL-Lp-PLA<sub>2</sub>, καθώς και ο λόγος Lp-PLA<sub>2</sub>/ApoB δεν διέφεραν σημαντικά σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου. Η πολυπαραγοντική ανάλυση (multiple regression analysis) έδειξε ότι εκτός από τα επίπεδα της LDL-C ο μόνος προγνωστικός δείκτης της ολικής ενεργότητας της Lp-PLA<sub>2</sub> ήταν τα επίπεδα του TNFα. Άλλες μελέτες έδειξαν ότι ο TNFα αυξάνει την ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> και άλλες ότι αναστέλλει την έκφρασή της (**8.4.2.5**). Στη μελέτη μας στους ασθενείς με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα η συσχέτιση μεταξύ της Lp-PLA<sub>2</sub> και του TNFα ήταν αρνητική, ένα εύρημα που υποδηλώνει ότι ο TNFα αναστέλλει την έκκριση της Lp-PLA<sub>2</sub>. Πρέπει να αναφερθεί ότι η ενεργότητα της ολικής Lp-PLA<sub>2</sub> μπορεί να αυξάνεται με την επίδραση των LPS των βρουκελλών<sup>644</sup>. Πράγματι, οι LPS αυξάνουν την έκφραση του mRNA της Lp-PLA<sub>2</sub> στους ιστούς που είναι πλούσιοι σε μακροφάγα<sup>644</sup>. Επιπρόσθετα, σε μια μελέτη ανιχνεύθηκαν αντι-PAF αντισώματα σε ασθενείς με βρουκέλλωση<sup>645</sup>. Αυτά τα αντισώματα οφείλονται στην επίδραση του PAF. Ο PAF διεγείρει τη σύνθεση και την έκκριση της Lp-PLA<sub>2</sub> υποδηλώνοντας ένα ρυθμιστικό μηχανισμό για την προστασία των κυττάρων από τις βλαβερές επιπτώσεις του PAF. Έτσι, πιθανά στις οξείες λοιμώξεις η αύξηση της Lp-PLA<sub>2</sub> αποτελεί ένα μηχανισμό άμυνας για την αντιμετώπιση των συστηματικών και των τοπικών επιπλοκών του PAF και των οξειδωμένων φωσφολιπιδίων. Αν και η επίδραση των ενδοτοξινών και των κυταροκινών στην Lp-PLA<sub>2</sub>, καθώς και οι μηχανισμοί δράσης τους δεν έχουν διευκρινισθεί πλήρως, μια πιθανή ερμηνεία των αποτελεσμάτων της μελέτης μας στους ασθενείς με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα είναι ότι οι LPS και ο PAF διεγείρουν την παραγωγή της Lp-PLA<sub>2</sub> και εξουδετερώνουν την πιθανή κατασταλτική επίδραση του TNFα. Ένα κρίσιμο ερώτημα είναι πως κατανέμεται η Lp-PLA<sub>2</sub> στους ασθενείς με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα, οι οποίοι έχουν χαμηλά επίπεδα LDL-C. Είναι γνωστό ότι το μεγαλύτερο μέρος της μάζας της Lp-PLA<sub>2</sub> συγκεντρώνεται στα μικρά πυκνά σωματίδια και λιγότερο στα μεγάλα LDL σωματίδια<sup>646</sup>. Οι ασθενείς με οξεία λοίμωξη από

βρουκέλλα είχαν σημαντικά αυξημένα επίπεδα sdLDL-C σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Αξιοσημείωτο είναι ότι η ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> και της HDL-Lp-PLA<sub>2</sub>, καθώς και ο λόγος Lp-PLA<sub>2</sub>/ApoB δεν μεταβλήθηκαν σημαντικά τέσσερις μήνες μετά τη θεραπεία σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές των ασθενών με οξεία λοίμωξη.

Τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης τον ιό EBV η ενεργότητα της ολικής Lp-PLA<sub>2</sub>, η ενεργότητα της HDL-Lp-PLA<sub>2</sub> και ο λόγος total plasma Lp-PLA<sub>2</sub>/ApoB των ασθενών με οξεία λοίμωξη από τον ιό EBV δεν μεταβλήθηκαν σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές τους στην οξεία λοίμωξη καθώς και με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου.

Στους ασθενείς με λεπτοσπείρωση οι ενεργότητες της Lp-PLA<sub>2</sub> και της HDL-Lp-PLA<sub>2</sub> ήταν μειωμένες σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης. Οι μεταβολές στις ενεργότητες της Lp-PLA<sub>2</sub> και της HDL-Lp-PLA<sub>2</sub> μπορεί να εξηγηθούν από τις παράλληλες μεταβολές στα επίπεδα της LDL-C ( $r=0.45$ ,  $p=0.04$ ) και της HDL-C ( $r=0.65$ ,  $p=0.03$ ). Επιπλέον, υπήρχε ασθενής συσχέτιση μεταξύ της χαμηλής ενεργότητας της Lp-PLA<sub>2</sub> στους ασθενείς με λεπτοσπείρωση και του TNFα ( $r=0.44$ ,  $p=0.07$ ). Πράγματι, όπως ήδη αναφέρθηκε, ο TNFα είναι ισχυρός αναστολέας της έκκρισης της Lp-PLA<sub>2</sub> (**8.4.2.5**). Πρέπει επίσης να επισημανθεί ότι η αύξηση της ενεργότητας της HDL-Lp-PLA<sub>2</sub> συσχετιζόταν με τη μείωση των επιπέδων του TNFα.

#### *Η επίδραση των λοιμώξεων στην PON1*

Οι ενεργότητες της PON1 (arylesterase και paraoxonase) των ασθενών με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα ήταν σημαντικά χαμηλότερες σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Μια πιθανή εξήγηση για τις χαμηλές ενεργότητες της PON1 σε αυτούς τους ασθενείς της μελέτης είναι ότι κατά τη διάρκεια της λοίμωξης αλλάζει η σύνθεση ή / και η έκκριση των HDL σωματιδίων και της apoA1. Επιπρόσθετα, η PON1 συνδέεται σχεδόν αποκλειστικά με την HDL και μάλιστα με το υποκλάσμα εκείνο της HDL που περιέχει apoA1. Επομένως, η αλλαγή της σύνθεσης ή/και έκκρισης των HDL και της ApoA1 συνεισφέρει στην ελάττωση της ενεργότητας της PON1 σε ασθενείς με οξείες λοιμώξεις (**9.4.2.1**). Αξιοσημείωτο είναι ότι τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης στους ασθενείς με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα αυξήθηκε η

ενεργότητα της PON1 (arylesterase και paraoxonase) και παράλληλα αυξήθηκαν τα επίπεδα της HDL-C και της apoA1. Επιπρόσθετα, οι LPS των βρουκελλών πιθανά συνεισφέρουν στην ελάττωση της ενεργότητας της PON1. Πράγματι, μελέτες έδειξαν ότι οι LPS μειώνουν την ενεργότητα της PON1 με μηχανισμούς που δεν έχουν πλήρως διευκρινισθεί **(9.4.2.2)**. Ακόμη, μελέτες έδειξαν ότι οι κυτταροκίνες μειώνουν την ενεργότητα της PON1 του ορού και την έκφραση του mRNA της PON1 σε καλλιέργειες ηπατοκυττάρων **(9.4.2.2)**. Ωστόσο, στη μελέτη μας δεν βρέθηκαν συσχετίσεις μεταξύ της PON1 (paraoxonase και arylesterase) των ασθενών με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα και των επιπέδων των κυτταροκινών που προσδιορίστηκαν.

Στους ασθενείς με λοίμωξη από τον ιό EBV, καθώς και τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης οι ενεργότητες της PON1 (paraoxonase και arylesterase) ήταν χαμηλότερες σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου **(εικόνες 16, 17)**. Επιπρόσθετα, τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης οι ενεργότητες της PON1 (paraoxonase και arylesterase) των ασθενών δεν μεταβλήθηκαν σημαντικά σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές τους στην οξεία λοίμωξη. Όπως περιγράφηκε παραπάνω η μείωση της ενεργότητας της PON1 στις λοιμώξεις οφείλεται στην επίδραση των κυτταροκινών καθώς και στις μεταβολές στα HDL σωματίδια και την apoA1 **(9.4.2)**. Στους ασθενείς με οξεία λοίμωξη από τον ιό EBV δεν υπήρχαν συσχετίσεις της PON1 (paraoxonase και arylesterase) με τα επίπεδα της apoA1 και των κυτταροκινών. Έτσι, οι μηχανισμοί που έχουν ως αποτέλεσμα την ελάττωση της ενεργότητας της PON1 και διατηρούν χαμηλά τις ενεργότητες της PON1 στους ασθενείς με λοίμωξη από τον ιό EBV τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης από τον ιό EBV δεν έχουν διευκρινισθεί.

Στους ασθενείς με λεπτοσπείρωση οι ενεργότητες της PON1 (paraoxonase, arylesterase) ήταν σημαντικά χαμηλότερες σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου. Επιπρόσθετα, τα επίπεδα της apoA1 και της HDL-C ήταν σημαντικά ελαττωμένα. Όπως ήδη αναφέρθηκε η ελάττωση της ενεργότητας της PON του ορού σε ασθενείς με λοιμώξεις πιθανά οφείλεται στην ελάττωση της σύνθεσης και της έκκρισης της PON από το ήπαρ ως αποτέλεσμα της μείωσης των ηπατικών επιπέδων του mRNA της PON που οφείλεται στην επίδραση των κυτταροκινών **(9.4.2.2)**. Ωστόσο, στη μελέτη μας στους ασθενείς με λεπτοσπείρωση δεν βρέθηκε συσχέτιση των επιπέδων των



κυτταροκινών με την ενεργότητα της PON1. Τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης οι ενεργότητες της PON1 (paraoxonase, arylesterase) δεν μεταβλήθηκαν σημαντικά παρά τις αυξήσεις των επιπέδων της apoA1 και της HDL-C και ήταν σημαντικά χαμηλότερες σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης οι ενεργότητες της PON1 (paraoxonase, arylesterase) δεν επιστρέφουν στις φυσιολογικές τιμές. Επιπλέον, παρατηρήθηκε αύξηση των επιπέδων της HDL-C, αλλά τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης οι τιμές αυτές ήταν χαμηλότερες από τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου. Εκτός από την ελάττωση των επιπέδων της HDL-C, στην παρούσα μελέτη δεν διευκρινίσθηκαν άλλοι μηχανισμοί που θα μπορούσαν να συνεισφέρουν στη μείωση της ενεργότητας της PON και στη διατήρηση αυτών των χαμηλών επιπέδων ενεργότητας τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης.



## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

1. Η συστηματική φλεγμονώδης αντίδραση ως απάντηση στη λοίμωξη (οξεία βρουκέλλωση, οξεία λοίμωξη από τον ιό Epstein-Barr και λεπτοσπείρωση) είχε ως αποτέλεσμα σημαντικές ποιοτικές και ποσοτικές μεταβολές των λιπιδίων. Αυτές οι μεταβολές διαμόρφωσαν ένα περισσότερο αθηρογόνο λιπιδαιμικό προφίλ στους ασθενείς με οξεία λοίμωξη.
2. Παρατηρήθηκε επίσης ότι τόσο το λιπιδαιμικό προφίλ όσο και οι μεταβολές των επιπέδων των κυτταροκινών που προσδιορίστηκαν ήταν διαφορετικές σε κάθε λοίμωξη.
3. Σε πολλές περιπτώσεις παρατηρήθηκαν συσχετίσεις των τιμών των λιπιδίων με τις κυτταροκίνες που προσδιορίστηκαν και διευκρινίσθηκαν οι υποκείμενοι μηχανισμοί διαμέσου των οποίων οι φλεγμονώδεις διεργασίες επηρεάζουν τα λιπίδια.
4. Σε όλους τους ασθενείς τα επίπεδα της TC, HDL-C και της LDL-C, καθώς και η ενεργότητα της PON1 (arylesterase και paraoxonase) ήταν μειωμένα σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου.
5. Στους ασθενείς με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα τα επίπεδα των TG του ορού δεν ήταν ιδιαίτερα αυξημένα σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Αντίθετα στους ασθενείς με οξεία λοίμωξη από τον ιό EBV, καθώς και στους ασθενείς με λεπτοσπείρωση, παρατηρήθηκε αύξηση των επιπέδων των τριγλυκεριδίων.
6. Παρατηρήθηκαν επίσης σημαντικές μεταβολές των επιπέδων των απολιποπρωτεϊνών. Αξιοσημείωτη είναι η μείωση των επιπέδων της apoA1 σε όλους τους ασθενείς της μελέτης σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου. Επιπρόσθετα, στους ασθενείς με λοίμωξη από τον ιό EBV τα επίπεδα της Lp(a) ήταν μειωμένα σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου. Στους ασθενείς με λεπτοσπείρωση τα επίπεδα της Lp(a) ήταν μειωμένα και τα επίπεδα της apoE αυξημένα σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου.

7. Στους ασθενείς με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές της ολικής ενεργότητας της Lp-PLA<sub>2</sub>, καθώς και της ενεργότητας της HDL-Lp-PLA<sub>2</sub> και του λόγου Lp-PLA<sub>2</sub>/ApoB. Επιπρόσθετα, σε αυτούς τους ασθενείς εκτός από τα επίπεδα της LDL-C ο μόνος προγνωστικός δείκτης της ολικής ενεργότητας της Lp-PLA<sub>2</sub> ήταν τα επίπεδα του TNFα. Η αρνητική συσχέτιση μεταξύ της Lp-PLA<sub>2</sub> και του TNFα υποδηλώνει ότι ο TNFα αναστέλλει την έκκριση της Lp-PLA<sub>2</sub>. Μια πιθανή ερμηνεία των αποτελεσμάτων της μελέτης μας όσον αφορά τους ασθενείς με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα είναι ότι ενδεχομένως άλλοι παράγοντες, όπως οι LPS των βρουκελλών και ο PAF, διεγείρουν την παραγωγή της Lp-PLA<sub>2</sub> και εξουδετερώνουν την πιθανή κατασταλτική επίδραση του TNFα.

Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές της ολικής ενεργότητας της Lp-PLA<sub>2</sub>, της ενεργότητας της HDL-Lp-PLA<sub>2</sub> και του λόγου total plasma Lp-PLA<sub>2</sub>/ApoB στους ασθενείς με οξεία λοίμωξη από τον ιό EBV.

Στους ασθενείς με λεπτοσπείρωση οι ενεργότητες της Lp-PLA<sub>2</sub> και της HDL-Lp-PLA<sub>2</sub> ήταν μειωμένες σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης. Αυτές οι μεταβολές στις ενεργότητες της Lp-PLA<sub>2</sub> και της HDL-Lp-PLA<sub>2</sub> μπορεί να εξηγηθούν από τις παράλληλες μεταβολές των επιπέδων της LDL-C και της HDL-C.

8. Οι ασθενείς με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα είχαν υψηλή χοληστερόλη των sdLDL σωματιδίων, ενώ δεν είχαν αυξημένα επίπεδα TG στον ορό. Σε αυτούς τους ασθενείς κάποιος άλλος μηχανισμός, εκτός από την υπερτριγλυκεριδαιμία είναι υπεύθυνος για την αύξηση των sdLDL σωματιδίων. Μια πιθανή εξήγηση της παρουσίας των sdLDL-C μπορεί να προκύψει από τη συσχέτιση της sdLDL-C με την IL-6. Σε αυτούς τους ασθενείς τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης η IL-6 παραμένει υψηλή. Ωστόσο, ο ρόλος της IL-6 στην αύξηση των sdLDL σωματιδίων στους ασθενείς με βρουκέλλωση δεν έχει πλήρως αποσαφηνισθεί.

Οι ασθενείς με οξεία λοίμωξη από τον ιό EBV είχαν αυξημένα τριγλυκερίδια και υψηλότερη συγκέντρωση χοληστερόλης των sdLDL σωματιδίων. Έτσι φαίνεται ότι η αύξηση των τριγλυκεριδίων είναι ο υποκείμενος μηχανισμός της παρουσίας των sdLDL σωματιδίων. Επιπρόσθετα, οι μεταβολές των

επιπέδων της sdLDL-C, της sdLDL% και του μεγέθους των LDL σωματιδίων που παρατηρήθηκαν κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης συσχετιζόνταν με την ελάττωση των επιπέδων του TNF $\alpha$ . Είναι γνωστό ότι ο TNF $\alpha$  αυξάνει τα τριγλυκερίδια του ορού. Ωστόσο, δεν υπήρχε συσχέτιση μεταξύ του TNF $\alpha$  και των επιπέδων των TG, ένα γεγονός που υποδηλώνει ότι ο TNF $\alpha$  πιθανά επιδρά άμεσα στη δημιουργία των sdLDL σωματιδίων. Έτσι, οι υποκείμενοι μηχανισμοί της αύξησης των sdLDL σωματιδίων στους ασθενείς με οξεία λοίμωξη από τον ιό EBV δεν έχουν πλήρως αποσαφηνισθεί.

Στη μελέτη μας οι ασθενείς με λεπτοσπείρωση είχαν υψηλότερα επίπεδα τριγλυκεριδίων και μεγαλύτερη συγκέντρωση χοληστερόλης των sdLDL σωματιδίων.

9. Ακόμη, η μελέτη μας έδειξε ότι κάποιες από αυτές τις αθηρογόνες μεταβολές των λιποπρωτεϊνών και των λιπιδίων δεν αποκαθίστανται πλήρως τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης. Οι ασθενείς με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα είχαν μεγαλύτερη συγκέντρωση χοληστερόλης των sdLDL σωματιδίων, η οποία παρέμεινε αυξημένη τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης. Οι ενεργότητες της PON1 (paraoxonase και arylesterase) των ασθενών με οξεία λοίμωξη από τον ιό EBV, ήταν μειωμένες τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης. Η λοίμωξη από λεπτόσπειρα είχε ως αποτέλεσμα σημαντικές αλλαγές στο λιπιδαιμικό προφίλ των ασθενών. Οι μεταβολές αυτές επέστρεψαν στα φυσιολογικά επίπεδα. Ωστόσο, η ενεργότητα της PON1 και τα επίπεδα της HDL-C, παρέμειναν χαμηλά τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης.



## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Πολλές μελέτες έδειξαν ότι οι πολύπλοκοι και σύνθετοι μηχανισμοί αλληλεπίδρασης μεταξύ του αγγειακού τοιχώματος, των συστατικών του αίματος και εξωγενών παραγόντων προσδίδουν στην αθηρογένεση τα χαρακτηριστικά μιας χρόνιας φλεγμονώδους διαδικασίας. Η συσχέτιση της λοίμωξης από μικροοργανισμούς με την αθηρωμάτωση απασχολεί τους ερευνητές εδώ και πολλά χρόνια. Πολυάριθμες μελέτες συσχέτισαν τους παράγοντες που ευοδώνουν τη φλεγμονή με την καρδιαγγειακή νόσο. Οι κυτταροκίνες, οι οποίες παράγονται ως απάντηση στην επίδραση βλαπτικών παραγόντων διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην εκδήλωση της αντίδρασης οξείας φάσης και επιδρούν στο μεταβολισμό των λιπιδίων και των λιποπρωτεϊνών. Πράγματι, η διαταραχή του μεταβολισμού των λιπιδίων και των λιποπρωτεϊνών είναι μια από τις πολλές και σημαντικές μεταβολές που παρατηρούνται σε περιπτώσεις λοίμωξης/φλεγμονής.

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν ο προσδιορισμός των ποιοτικών και ποσοτικών διαταραχών των λιπιδίων σε ασθενείς με οξεία βρουκέλλωση, λοίμωξη από τον ιό Epstein Barr και λεπτοσπείρωση. Μελετήθηκαν 28 ασθενείς με οξεία βρουκέλλωση, 29 ασθενείς με λοίμωξη από τον ιό Epstein-Barr και 11 ασθενείς με λεπτοσπείρωση, κατά τη διάγνωση και τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης, καθώς και υγιή άτομα της ίδιας ηλικίας και φύλου (ομάδες ελέγχου).

Σε όλα τα άτομα της μελέτης προσδιορίστηκαν οι παρακάτω παράμετροι: ολική χοληστερόλη (TC), χοληστερόλη των υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών (HDL-C), τριγλυκερίδια (TGs), χοληστερόλη των χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών (LDL-C), απολιποπρωτεΐνες (Apo) AI, B και E, λιποπρωτεΐνη (a) [Lp(a)], ενεργότητα της ολικής Lp-PLA<sub>2</sub> (lipoprotein-associated phospholipase A<sub>2</sub>), ενεργότητα της HDL-Lp-PLA<sub>2</sub>, ενεργότητα της PON1 (paraoxonase 1), [paraoxonase/arylesterase], κυτταροκίνες (IL-1β, IL-6 και TNFα), καθώς και τα υποκλάσματα των LDL με τη μέθοδο Lipoprint LDL System.

Παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές του λιπιδαιμικού προφίλ σε όλους τους ασθενείς της μελέτης. Πράγματι, τα επίπεδα της TC, HDL-C και της LDL-C ήταν μειωμένα σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου. Παρατηρήθηκε επίσης ότι οι μεταβολές των τιμών των άλλων λιπιδαιμικών

παραμέτρων και των επιπέδων των κυτταροκινών που προσδιορίστηκαν διέφεραν μεταξύ των ασθενών με διαφορετική λοίμωξη (οξεία βρουκέλλωση, οξεία λοίμωξη από τον ιό Epstein-Barr και λεπτοσπείρωση). Σε πολλές περιπτώσεις αυτές οι μεταβολές των λιπιδίων συσχετίζονταν με τις κυτταροκίνες που προσδιορίστηκαν. Επιπρόσθετα, η μελέτη μας έδειξε ότι κάποιες από αυτές τις αθηρογόνες μεταβολές των λιπιδίων και των λιποπρωτεϊνών δεν αποκαθίστανται πλήρως τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης.

Πράγματι, οι ασθενείς με οξεία λοίμωξη από βρουκέλλα είχαν αυξημένη χοληστερόλη των sdLDL σωματιδίων, μικρότερο μέγεθος των LDL σωματιδίων και μειωμένα επίπεδα χοληστερόλης των μεγάλων LDL σωματιδίων σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας ελέγχου. Σε αυτούς τους ασθενείς, τέσσερις μήνες μετά τη θεραπεία τα επίπεδα της χοληστερόλης των VLDL και των sdLDL σωματιδίων καθώς και η μέση διάμετρος των LDL σωματιδίων δεν μεταβλήθηκαν σημαντικά.

Ακόμη, στους ασθενείς με λοίμωξη από τον ιό EBV, τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης οι ενεργότητες της PON1 (paraoxonase και arylesterase) ήταν χαμηλότερες σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου.

Επιπρόσθετα, η λοίμωξη από λεπτοσπείρα προκάλεσε σημαντικές αλλαγές στο λιπιδαιμικό προφίλ των ασθενών. Οι μεταβολές αυτές επέστρεψαν στα φυσιολογικά επίπεδα, εκτός από την ενεργότητα της PON1 και τα επίπεδα της HDL-C, τα οποία παρέμειναν χαμηλά τέσσερις μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης.

Η συστηματική φλεγμονώδης αντίδραση ως απάντηση στη λοίμωξη προκαλεί σημαντικές ποιοτικές και ποσοτικές μεταβολές των λιπιδίων. Αυτές οι μεταβολές διαμορφώνουν ένα περισσότερο αθηρογόνο λιπιδαιμικό προφίλ σε ασθενείς με οξείες λοιμώξεις το οποίο δεν αποκαθίστανται πλήρως 4 μήνες μετά την αποδρομή της λοίμωξης.



## **SUMMARY**

Current evidence suggests that atherosclerosis develops as a response to inflammatory stimulus. Infection and inflammation cause similar cytokine-induced changes in lipid and lipoprotein metabolism and these changes contribute to a possible infection-induced acceleration of atherogenesis. We undertook the present study to evaluate the possible quantitative and qualitative effects of acute Brucellosis, acute EBV infection and Leptospirosis on serum lipid parameters and associated enzymes.

Lipid parameters were determined in 28 patients with acute Brucellosis, 29 patients with acute EBV infection and 11 patients with Leptospirosis on diagnosis and 4 months following treatment and were compared with matched controls.

Fasting levels of total cholesterol (TC), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), triglycerides, apolipoproteins (Apo) AI, B, E CII, CIII were measured. Activities of serum cholesterol ester transfer protein (CETP), paraoxonase 1 (PON1) and lipoprotein-associated phospholipase A2 (Lp-PLA<sub>2</sub>) as well as levels of cytokines [interleukins (IL)-1 $\beta$ , IL-6 and tumor necrosis factor (TNF $\alpha$ )] were also determined. Low-density lipoprotein (LDL) subclass analysis was performed with the Lipoprint LDL System.

We observe changes in lipids and lipoproteins in all infected patients. These changes include reductions in serum levels of TC, HDL-C and LDL-C. Different changes in other lipids parameters and cytokines have been observed in patients with acute infection (acute Brucellosis, acute EBV infection, Leptospirosis). In some cases, significant correlations between lipids and cytokines levels were noticed. Moreover, the present study showed that these infections are associated with a shift of serum lipids, lipoproteins and associated enzymes towards a more atherogenic lipid profile, which is not fully restored 4 months after treatment.

Indeed, we observed a shift in LDL subclass distribution toward smaller particles in patients with acute Brucellosis compared with controls. Of interest, 4 months later sdLDL-C levels and LDL size were not significantly different compared with those on admission.

The activities of both PON1 (paraoxonase) and PON1 (arylesterase) were lower in patients with EBV infection. 4 months after the resolution of infectious

mononucleosis as compared with controls. This finding implies that the activities of these enzymes may have not yet returned to normal 4 months after the resolution of acute EBV infection.

Leptospirosis causes impressive alterations in the lipid profile of patients. Most of these disturbances return to normal after recovery. However, HDL-C levels and the activities of PON1 (paraoxonase, arylesterase) remain lower compared with the control population 4 months after recovery.

The present study showed that these infections are associated with atherogenic changes of serum lipids, lipoproteins and associated enzymes, which are not fully restored 4 months after recovery.

## ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

1) **Apostolou F**, Gazi IF, Kostoula A, Tellis CC, Tselepis AD, Elisaf M, Liberopoulos EN

Persistence of an atherogenic lipid profile after treatment of acute infection with brucella

J Lipid Res. 2009 Dec;50(12):2532-9. Epub 2009 Jun 17

2) **Apostolou F**, Gazi IF, Lagos K, Tellis CC, Tselepis AD, Liberopoulos EN, Elisaf M

Acute infection with Epstein–Barr virus is associated with atherogenic lipid changes

Atherosclerosis. 2010 Oct;212(2):607-13. Epub 2010 Jun 11

3) Gazi IF, **Apostolou F**, Liberopoulos EN, Filippatos TD, Tellis CC, Elisaf MS, Tselepis AD

Leptospirosis is Associated with Markedly Increased Triglycerides and Small Dense Low-Density Lipoprotein and Decreased High-Density Lipoprotein

Lipids. 2011 Oct;46(10):953-60



## **ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

- 1 Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340:115-126
- 2 Friedman GD, Klatsky AL, Siegelaub AB. The leukocyte count as a predictor of myocardial infarction. *N Engl J Med* 1974; 290:1275-1278
- 3 Kostis JB, Turkevich D, Sharp J. Association between leukocyte count and the presence and extent of coronary atherosclerosis as determined by coronary arteriography. *Am J Cardiol* 1984; 53:997-999
- 4 Lowe GD, Machado SG, Krol WF, et al. White blood cell count and haematocrit as predictors of coronary recurrence after myocardial infarction. *Thromb Haemost* 1985; 54:700-703
- 5 Mehta J, Dinerman J, Mehta P, et al. Neutrophil function in ischemic heart disease. *Circulation* 1989; 79:549-556
- 6 Horne BD, Anderson JL, John JM, et al. Which white blood cell subtypes predict increased cardiovascular risk? *J Am Coll Cardiol* 2005; 45:1638-1643
- 7 Cavusoglu E, Chopra V, Gupta A, et al. Usefulness of the white blood cell count as a predictor of angiographic findings in an unselected population referred for coronary angiography. *Am J Cardiol* 2006; 98:1189-1193
- 8 Dinerman JL, Mehta JL, Saldeen TG, et al. Increased neutrophil elastase release in unstable angina pectoris and acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 1990; 15:1559-1563
- 9 Schindhelm RK, van der Zwan LP, Teerlink T, et al. Myeloperoxidase: a useful biomarker for cardiovascular disease risk stratification? *Clin Chem* 2009; 55:1462-1470
- 10 Mazzone A, De Servi S, Ricevuti G, et al. Increased expression of neutrophil and monocyte adhesion molecules in unstable coronary artery disease. *Circulation* 1993; 88:358-363
- 11 Sernerri GG, Abbate R, Gori AM, et al. Transient intermittent lymphocyte activation is responsible for the instability of angina. *Circulation* 1992; 86:790-797
- 12 van der Wal AC, Becker AE, van der Loos CM, et al. Site of intimal rupture or erosion of thrombosed coronary atherosclerotic plaques is characterized by an

- inflammatory process irrespective of the dominant plaque morphology. *Circulation* 1994; 89:36-44
- 13 Vaddi K, Nicolini FA, Mehta P, et al. Increased secretion of tumor necrosis factor-alpha and interferon-gamma by mononuclear leukocytes in patients with ischemic heart disease. Relevance in superoxide anion generation. *Circulation* 1994; 90:694-699
  - 14 Tedgui A, Mallat Z. Cytokines in atherosclerosis: pathogenic and regulatory pathways. *Physiol Rev* 2006; 86:515-581
  - 15 Ridker PM, Danielson E, Fonseca FA, et al. Rosuvastatin to prevent vascular events in men and women with elevated C-reactive protein. *N Engl J Med* 2008; 359:2195-2207
  - 16 Smieja M, Mahony J, Petrich A, et al. Association of circulating *Chlamydia pneumoniae* DNA with cardiovascular disease: a systematic review. *BMC Infect Dis* 2002; 2:21
  - 17 Muhlestein JB, Hammond EH, Carlquist JF, et al. Increased incidence of *Chlamydia* species within the coronary arteries of patients with symptomatic atherosclerotic versus other forms of cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol* 1996; 27:1555-1561
  - 18 Ramirez JA. Isolation of *Chlamydia pneumoniae* from the coronary artery of a patient with coronary atherosclerosis. The *Chlamydia pneumoniae/Atherosclerosis* Study Group. *Ann Intern Med* 1996; 125:979-982
  - 19 Kuo CC, Coulson AS, Campbell LA, et al. Detection of *Chlamydia pneumoniae* in atherosclerotic plaques in the walls of arteries of lower extremities from patients undergoing bypass operation for arterial obstruction. *J Vasc Surg* 1997; 26:29-31
  - 20 Shor A, Kuo CC, Patton DL. Detection of *Chlamydia pneumoniae* in coronary arterial fatty streaks and atheromatous plaques. *S Afr Med J* 1992; 82:158-161
  - 21 Kuo CC, Shor A, Campbell LA, et al. Demonstration of *Chlamydia pneumoniae* in atherosclerotic lesions of coronary arteries. *J Infect Dis* 1993; 167:841-849
  - 22 Wimmer ML, Sandmann-Strupp R, Saikku P, et al. Association of chlamydial infection with cerebrovascular disease. *Stroke* 1996; 27:2207-2210

- 23 Patel P, Mendall MA, Carrington D, et al. Association of *Helicobacter pylori* and *Chlamydia pneumoniae* infections with coronary heart disease and cardiovascular risk factors. *Bmj* 1995; 311:711-714
- 24 Pasceri V, Cammarota G, Patti G, et al. Association of virulent *Helicobacter pylori* strains with ischemic heart disease. *Circulation* 1998; 97:1675-1679
- 25 Danesh J, Youngman L, Clark S, et al. *Helicobacter pylori* infection and early onset myocardial infarction: case-control and sibling pairs study. *Bmj* 1999; 319:1157-1162
- 26 Mayr M, Kiechl S, Mendall MA, et al. Increased risk of atherosclerosis is confined to CagA-positive *Helicobacter pylori* strains: prospective results from the Bruneck study. *Stroke* 2003; 34:610-615
- 27 Folsom AR, Nieto FJ, Sorlie P, et al. *Helicobacter pylori* seropositivity and coronary heart disease incidence. Atherosclerosis Risk In Communities (ARIC) Study Investigators. *Circulation* 1998; 98:845-850
- 28 Strachan DP, Mendall MA, Carrington D, et al. Relation of *Helicobacter pylori* infection to 13-year mortality and incident ischemic heart disease in the caerphilly prospective heart disease study. *Circulation* 1998; 98:1286-1290
- 29 Zhu J, Quyyumi AA, Muhlestein JB, et al. Lack of association of *Helicobacter pylori* infection with coronary artery disease and frequency of acute myocardial infarction or death. *Am J Cardiol* 2002; 89:155-158
- 30 Fabricant CG, Fabricant J, Minick CR, et al. Herpesvirus-induced atherosclerosis in chickens. *Fed Proc* 1983; 42:2476-2479
- 31 Benditt EP, Barrett T, McDougall JK. Viruses in the etiology of atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1983; 80:6386-6389
- 32 Melnick JL, Petrie BL, Dreesman GR, et al. Cytomegalovirus antigen within human arterial smooth muscle cells. *Lancet* 1983; 2:644-647
- 33 Hendrix MG, Salimans MM, van Boven CP, et al. High prevalence of latently present cytomegalovirus in arterial walls of patients suffering from grade III atherosclerosis. *Am J Pathol* 1990; 136:23-28
- 34 Speir E, Modali R, Huang ES, et al. Potential role of human cytomegalovirus and p53 interaction in coronary restenosis. *Science* 1994; 265:391-394
- 35 Koskinen P, Lemstrom K, Mattila S, et al. Cytomegalovirus infection associated accelerated heart allograft arteriosclerosis may impair the late function of the graft. *Clin Transplant* 1996; 10:487-493

- 36 Koskinen P, Lemstrom K, Bruggeman C, et al. Acute cytomegalovirus infection induces a subendothelial inflammation (endothelialitis) in the allograft vascular wall. A possible linkage with enhanced allograft arteriosclerosis. *Am J Pathol* 1994; 144:41-50
- 37 Jones K, Rivera C, Sgadari C, et al. Infection of human endothelial cells with Epstein-Barr virus. *J Exp Med* 1995; 182:1213-1221
- 38 Kempe S, Heinz P, Kokai E, et al. Epstein-barr virus-induced gene-3 is expressed in human atheroma plaques. *Am J Pathol* 2009; 175:440-447
- 39 Shi Y, Tokunaga O. Herpesvirus (HSV-1, EBV and CMV) infections in atherosclerotic compared with non-atherosclerotic aortic tissue. *Pathol Int* 2002; 52:31-39
- 40 Ibrahim AI, Obeid MT, Jouma MJ, et al. Detection of herpes simplex virus, cytomegalovirus and Epstein-Barr virus DNA in atherosclerotic plaques and in unaffected bypass grafts. *J Clin Virol* 2005; 32:29-32
- 41 Muneuchi J, Ohga S, Ishimura M, et al. Cardiovascular complications associated with chronic active Epstein-Barr virus infection. *Pediatr Cardiol* 2009; 30:274-281
- 42 Schlitt A, Blankenberg S, Weise K, et al. Herpesvirus DNA (Epstein-Barr virus, herpes simplex virus, cytomegalovirus) in circulating monocytes of patients with coronary artery disease. *Acta Cardiol* 2005; 60:605-610
- 43 Voorend M, van der Ven AJ, Kubat B, et al. Limited role for *C. pneumoniae*, CMV and HSV-1 in cerebral large and small vessel atherosclerosis. *Open Neurol J* 2008; 2:39-44
- 44 Szklo M, Ding J, Tsai MY, et al. Individual pathogens, pathogen burden and markers of subclinical atherosclerosis: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)* 2009; 10:747-751
- 45 Andreoletti L, Venteo L, Douche-Aourik F, et al. Active Coxsackieviral B infection is associated with disruption of dystrophin in endomyocardial tissue of patients who died suddenly of acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2007; 50:2207-2214
- 46 Woods JD, Nimmo MJ, Mackay-Scollay EM. Acute transmural myocardial infarction associated with active Coxsackie virus B infection. *Am Heart J* 1975; 89:283-287



- 47 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; 84:715-726
- 48 Volzke H, Schwahn C, Wolff B, et al. Hepatitis B and C virus infection and the risk of atherosclerosis in a general population. *Atherosclerosis* 2004; 174:99-103
- 49 Moritani M, Adachi K, Arima N, et al. A study of arteriosclerosis in healthy subjects with HBV and HCV infection. *J Gastroenterol* 2005; 40:1049-1053
- 50 Friis-Moller N, Sabin CA, Weber R, et al. Combination antiretroviral therapy and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med* 2003; 349:1993-2003
- 51 Currier JS. Update on cardiovascular complications in HIV infection. *Top HIV Med* 2009; 17:98-103
- 52 Hsue PY, Hunt PW, Schnell A, et al. Role of viral replication, antiretroviral therapy, and immunodeficiency in HIV-associated atherosclerosis. *Aids* 2009; 23:1059-1067
- 53 Espinola-Klein C, Rupprecht HJ, Blankenberg S, et al. Impact of infectious burden on extent and long-term prognosis of atherosclerosis. *Circulation* 2002; 105:15-21
- 54 Prasad A, Zhu J, Halcox JP, et al. Predisposition to atherosclerosis by infections: role of endothelial dysfunction. *Circulation* 2002; 106:184-190
- 55 Anderson JL, Carlquist JF, Muhlestein JB, et al. Evaluation of C-reactive protein, an inflammatory marker, and infectious serology as risk factors for coronary artery disease and myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 1998; 32:35-41
- 56 Rupprecht HJ, Blankenberg S, Bickel C, et al. Impact of viral and bacterial infectious burden on long-term prognosis in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2001; 104:25-31
- 57 Smieja M, Gnarpe J, Lonn E, et al. Multiple infections and subsequent cardiovascular events in the Heart Outcomes Prevention Evaluation (HOPE) Study. *Circulation* 2003; 107:251-257
- 58 Ferrari M, Werner GS, Richartz BM, et al. Lack of association between *Chlamydia Pneumoniae* serology and endothelial dysfunction of coronary arteries. *Cardiovasc Ultrasound* 2005; 3:12

- 59 Khairy P, Rinfret S, Tardif JC, et al. Absence of association between infectious agents and endothelial function in healthy young men. *Circulation* 2003; 107:1966-1971
- 60 Haider AW, Wilson PW, Larson MG, et al. The association of seropositivity to *Helicobacter pylori*, *Chlamydia pneumoniae*, and cytomegalovirus with risk of cardiovascular disease: a prospective study. *J Am Coll Cardiol* 2002; 40:1408-1413
- 61 van Leuven SI, Franssen R, Kastelein JJ, et al. Systemic inflammation as a risk factor for atherothrombosis. *Rheumatology (Oxford)* 2008; 47:3-7
- 62 Levi M, van der Poll T, Buller HR. Bidirectional relation between inflammation and coagulation. *Circulation* 2004; 109:2698-2704
- 63 Stenvinkel P. Endothelial dysfunction and inflammation-is there a link? *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16:1968-1971
- 64 Utermann G. The mysteries of lipoprotein(a). *Science* 1989; 246:904-910
- 65 Hussain MM. A proposed model for the assembly of chylomicrons. *Atherosclerosis* 2000; 148:1-15
- 66 Beisiegel U. Lipoprotein metabolism. *Eur Heart J* 1998; 19 Suppl A:A20-23
- 67 Eckel RH. Lipoprotein lipase. A multifunctional enzyme relevant to common metabolic diseases. *N Engl J Med* 1989; 320:1060-1068
- 68 Cooper AD. Hepatic clearance of plasma chylomicron remnants. *Semin Liver Dis* 1992; 12:386-396
- 69 Davis RA. Cell and molecular biology of the assembly and secretion of apolipoprotein B-containing lipoproteins by the liver. *Biochim Biophys Acta* 1999; 1440:1-31
- 70 Goldberg IJ. Lipoprotein lipase and lipolysis: central roles in lipoprotein metabolism and atherogenesis. *J Lipid Res* 1996; 37:693-707
- 71 Connelly PW. The role of hepatic lipase in lipoprotein metabolism. *Clin Chim Acta* 1999; 286:243-255
- 72 Eisenberg S, Sehayek E. Remnant particles and their metabolism. *Baillieres Clin Endocrinol Metab* 1995; 9:739-753
- 73 Brown MS, Goldstein JL. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science* 1986; 232:34-47
- 74 Brown MS, Goldstein JL. Lipoprotein receptors in the liver. Control signals for plasma cholesterol traffic. *J Clin Invest* 1983; 72:743-747

- 75 Eisenberg S. High density lipoprotein metabolism. *J Lipid Res* 1984; 25:1017-1058
- 76 Fielding CJ, Fielding PE. Molecular physiology of reverse cholesterol transport. *J Lipid Res* 1995; 36:211-228
- 77 Tall A. Plasma lipid transfer proteins. *Annu Rev Biochem* 1995; 64:235-257
- 78 Scanu AM, Edelstein C. HDL: bridging past and present with a look at the future. *Faseb J* 2008; 22:4044-4054
- 79 Barrans A, Collet X, Barbaras R, et al. Hepatic lipase induces the formation of pre-beta 1 high density lipoprotein (HDL) from triacylglycerol-rich HDL2. A study comparing liver perfusion to in vitro incubation with lipases. *J Biol Chem* 1994; 269:11572-11577
- 80 Gabay C, Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med* 1999; 340:448-454
- 81 Hardardottir I, Grunfeld C, Feingold KR. Effects of endotoxin on lipid metabolism. *Biochem Soc Trans* 1995; 23:1013-1018
- 82 Gallin JI, Kaye D, O'Leary WM. Serum lipids in infection. *N Engl J Med* 1969; 281:1081-1086
- 83 Grunfeld C, Pang M, Doerrler W, et al. Lipids, lipoproteins, triglyceride clearance, and cytokines in human immunodeficiency virus infection and the acquired immunodeficiency syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 74:1045-1052
- 84 Sammalkorpi K, Valtonen V, Kerttula Y, et al. Changes in serum lipoprotein pattern induced by acute infections. *Metabolism* 1988; 37:859-865
- 85 Fiser RH, Shultz TD, Rindsig RB, et al. Alterations in plasma and brain lipid metabolism during endotoxemia in the neonatal rat. *Biol Neonate* 1973; 22:155-160
- 86 Kaufmann RL, Matson CF, Beisel WR. Hypertriglyceridemia produced by endotoxin: role of impaired triglyceride disposal mechanisms. *J Infect Dis* 1976; 133:548-555
- 87 Sakaguchi O, Sakaguchi S. Alterations of lipid metabolism in mice injected with endotoxin. *Microbiol Immunol* 1979; 23:71-85
- 88 Scholl RA, Lang CH, Bagby GJ. Hypertriglyceridemia and its relation to tissue lipoprotein lipase activity in endotoxemic, *Escherichia coli* bacteremic, and polymicrobial septic rats. *J Surg Res* 1984; 37:394-401

- 89 Gaal D, Kremmer T, Balint Z, et al. Effects of bacterial endotoxins and their detoxified derivatives on serum and liver lipids in mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 1984; 75:437-443
- 90 Kawakami M, Murase T, Itakura H, et al. Lipid metabolism in endotoxic rats: decrease in hepatic triglyceride lipase activity. *Microbiol Immunol* 1986; 30:849-854
- 91 Auerbach BJ, Parks JS. Lipoprotein abnormalities associated with lipopolysaccharide-induced lecithin: cholesterol acyltransferase and lipase deficiency. *J Biol Chem* 1989; 264:10264-10270
- 92 Ettinger WH, Miller LD, Albers JJ, et al. Lipopolysaccharide and tumor necrosis factor cause a fall in plasma concentration of lecithin: cholesterol acyltransferase in cynomolgus monkeys. *J Lipid Res* 1990; 31:1099-1107
- 93 Feingold KR, Staprans I, Memon RA, et al. Endotoxin rapidly induces changes in lipid metabolism that produce hypertriglyceridemia: low doses stimulate hepatic triglyceride production while high doses inhibit clearance. *J Lipid Res* 1992; 33:1765-1776
- 94 Feingold KR, Hardardottir I, Memon R, et al. Effect of endotoxin on cholesterol biosynthesis and distribution in serum lipoproteins in Syrian hamsters. *J Lipid Res* 1993; 34:2147-2158
- 95 Nonogaki K, Moser AH, Pan XM, et al. Lipoteichoic acid stimulates lipolysis and hepatic triglyceride secretion in rats in vivo. *J Lipid Res* 1995; 36:1987-1995
- 96 Feingold KR, Grunfeld C. Tumor necrosis factor-alpha stimulates hepatic lipogenesis in the rat in vivo. *J Clin Invest* 1987; 80:184-190
- 97 Argiles JM, Lopez-Soriano FJ, Evans RD, et al. Interleukin-1 and lipid metabolism in the rat. *Biochem J* 1989; 259:673-678
- 98 Feingold KR, Soued M, Serio MK, et al. Multiple cytokines stimulate hepatic lipid synthesis in vivo. *Endocrinology* 1989; 125:267-274
- 99 Feingold KR, Soued M, Adi S, et al. Effect of interleukin-1 on lipid metabolism in the rat. Similarities to and differences from tumor necrosis factor. *Arterioscler Thromb* 1991; 11:495-500
- 100 Memon RA, Grunfeld C, Moser AH, et al. Tumor necrosis factor mediates the effects of endotoxin on cholesterol and triglyceride metabolism in mice. *Endocrinology* 1993; 132:2246-2253

- 101 Nonogaki K, Fuller GM, Fuentes NL, et al. Interleukin-6 stimulates hepatic triglyceride secretion in rats. *Endocrinology* 1995; 136:2143-2149
- 102 Sherman ML, Spriggs DR, Arthur KA, et al. Recombinant human tumor necrosis factor administered as a five-day continuous infusion in cancer patients: phase I toxicity and effects on lipid metabolism. *J Clin Oncol* 1988; 6:344-350
- 103 Malmendier CL, Lontie JF, Sculier JP, et al. Modifications of plasma lipids, lipoproteins and apolipoproteins in advanced cancer patients treated with recombinant interleukin-2 and autologous lymphokine-activated killer cells. *Atherosclerosis* 1988; 73:173-180
- 104 Starnes HF, Jr., Warren RS, Jeevanandam M, et al. Tumor necrosis factor and the acute metabolic response to tissue injury in man. *J Clin Invest* 1988; 82:1321-1325
- 105 Kurzrock R, Rohde MF, Quesada JR, et al. Recombinant gamma interferon induces hypertriglyceridemia and inhibits post-heparin lipase activity in cancer patients. *J Exp Med* 1986; 164:1093-1101
- 106 Olsen EA, Lichtenstein GR, Wilkinson WE. Changes in serum lipids in patients with condylomata acuminata treated with interferon alfa-n1 (Wellferon). *J Am Acad Dermatol* 1988; 19:286-289
- 107 Naeem M, Bacon BR, Mistry B, et al. Changes in serum lipoprotein profile during interferon therapy in chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 2001; 96:2468-2472
- 108 Nonogaki K, Pan XM, Moser AH, et al. Keratinocyte growth factor increases fatty acid mobilization and hepatic triglyceride secretion in rats. *Endocrinology* 1995; 136:4278-4284
- 109 Chajek-Shaul T, Friedman G, Stein O, et al. Mechanism of the hypertriglyceridemia induced by tumor necrosis factor administration to rats. *Biochim Biophys Acta* 1989; 1001:316-324
- 110 Rosenzweig IB, Wiebe DA, Hank JA, et al. Effects of interleukin-2 (IL-2) on human plasma lipid, lipoprotein, and C-reactive protein. *Biotherapy* 1990; 2:193-198
- 111 Nonogaki K, Pan XM, Moser AH, et al. LIF and CNTF, which share the gp130 transduction system, stimulate hepatic lipid metabolism in rats. *Am J Physiol* 1996; 271:E521-528

- 112 Nonogaki K, Moser AH, Shigenaga J, et al. Beta-nerve growth factor as a mediator of the acute phase response in vivo. *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 219:956-961
- 113 Evans RD, Ilic V, Williamson DH. Effects of platelet-activating factor on lipid metabolism in rats in vivo. Origin of the hypertriglyceridaemia. *Biochem J* 1991; 280 ( Pt 2):541-543
- 114 Funk JL, Moser AH, Strewler GJ, et al. Parathyroid hormone-related protein is induced during lethal endotoxemia and contributes to endotoxin-induced mortality in rodents. *Mol Med* 1996; 2:204-210
- 115 Feingold KR, Soued M, Staprans I, et al. Effect of tumor necrosis factor (TNF) on lipid metabolism in the diabetic rat. Evidence that inhibition of adipose tissue lipoprotein lipase activity is not required for TNF-induced hyperlipidemia. *J Clin Invest* 1989; 83:1116-1121
- 116 Evans RD, Williamson DH. Comparison of effects of platelet-activating factor and tumour necrosis factor-alpha on lipid metabolism in adrenalectomized rats in vivo. *Biochim Biophys Acta* 1991; 1086:191-196
- 117 Feingold KR, Soued M, Serio MK, et al. The effect of diet on tumor necrosis factor stimulation of hepatic lipogenesis. *Metabolism* 1990; 39:623-632
- 118 Feingold KR, Adi S, Staprans I, et al. Diet affects the mechanisms by which TNF stimulates hepatic triglyceride production. *Am J Physiol* 1990; 259:E177-184
- 119 Khovidhunkit W, Kim MS, Memon RA, et al. Effects of infection and inflammation on lipid and lipoprotein metabolism: mechanisms and consequences to the host. *J Lipid Res* 2004; 45:1169-1196
- 120 Romanosky AJ, Bagby GJ, Bockman EL, et al. Free fatty acid utilization by skeletal muscle after endotoxin administration. *Am J Physiol* 1980; 239:E391-395
- 121 Memon RA, Feingold KR, Moser AH, et al. Regulation of fatty acid transport protein and fatty acid translocase mRNA levels by endotoxin and cytokines. *Am J Physiol* 1998; 274:E210-217
- 122 Memon RA, Bass NM, Moser AH, et al. Down-regulation of liver and heart specific fatty acid binding proteins by endotoxin and cytokines in vivo. *Biochim Biophys Acta* 1999; 1440:118-126

- 123 Feingold KR, Serio MK, Adi S, et al. Tumor necrosis factor stimulates hepatic lipid synthesis and secretion. *Endocrinology* 1989; 124:2336-2342
- 124 Grunfeld C, Soued M, Adi S, et al. Evidence for two classes of cytokines that stimulate hepatic lipogenesis: relationships among tumor necrosis factor, interleukin-1 and interferon-alpha. *Endocrinology* 1990; 127:46-54
- 125 Grunfeld C, Verdier JA, Neese R, et al. Mechanisms by which tumor necrosis factor stimulates hepatic fatty acid synthesis in vivo. *J Lipid Res* 1988; 29:1327-1335
- 126 Grunfeld C, Soued M, Adi S, et al. Interleukin 4 inhibits stimulation of hepatic lipogenesis by tumor necrosis factor, interleukin 1, and interleukin 6 but not by interferon-alpha. *Cancer Res* 1991; 51:2803-2807
- 127 Hikawj-Yevich I, Spitzer JA. Endotoxin influence on lipolysis in isolated human and primate adipocytes. *J Surg Res* 1977; 23:106-113
- 128 Spitzer JJ. Lipid metabolism in endotoxic shock. *Circ Shock Suppl* 1979; 1:69-79
- 129 Green A, Dobias SB, Walters DJ, et al. Tumor necrosis factor increases the rate of lipolysis in primary cultures of adipocytes without altering levels of hormone-sensitive lipase. *Endocrinology* 1994; 134:2581-2588
- 130 Kawakami M, Murase T, Ogawa H, et al. Human recombinant TNF suppresses lipoprotein lipase activity and stimulates lipolysis in 3T3-L1 cells. *J Biochem* 1987; 101:331-338
- 131 Hauner H, Petruschke T, Russ M, et al. Effects of tumour necrosis factor alpha (TNF alpha) on glucose transport and lipid metabolism of newly-differentiated human fat cells in cell culture. *Diabetologia* 1995; 38:764-771
- 132 Memon RA, Feingold KR, Moser AH, et al. In vivo effects of interferon-alpha and interferon-gamma on lipolysis and ketogenesis. *Endocrinology* 1992; 131:1695-1702
- 133 Doerrler W, Feingold KR, Grunfeld C. Cytokines induce catabolic effects in cultured adipocytes by multiple mechanisms. *Cytokine* 1994; 6:478-484
- 134 Zhang HH, Halbleib M, Ahmad F, et al. Tumor necrosis factor-alpha stimulates lipolysis in differentiated human adipocytes through activation of extracellular signal-related kinase and elevation of intracellular cAMP. *Diabetes* 2002; 51:2929-2935

- 135 Greenberg AS, Shen WJ, Muliro K, et al. Stimulation of lipolysis and hormone-sensitive lipase via the extracellular signal-regulated kinase pathway. *J Biol Chem* 2001; 276:45456-45461
- 136 Memon RA, Fuller J, Moser AH, et al. In vivo regulation of acyl-CoA synthetase mRNA and activity by endotoxin and cytokines. *Am J Physiol* 1998; 275:E64-72
- 137 Beylot M, Guiraud M, Grau G, et al. Regulation of ketone body flux in septic patients. *Am J Physiol* 1989; 257:E665-674
- 138 Takeyama N, Itoh Y, Kitazawa Y, et al. Altered hepatic mitochondrial fatty acid oxidation and ketogenesis in endotoxic rats. *Am J Physiol* 1990; 259:E498-505
- 139 Barke RA, Birkliid S, Chapin RB, et al. The effect of surgical treatment following peritoneal sepsis on hepatic gene expression. *J Surg Res* 1996; 60:101-106
- 140 Andrejko KM, Deutschman CS. Altered hepatic gene expression in fecal peritonitis: changes in transcription of gluconeogenic, beta-oxidative, and ureagenic genes. *Shock* 1997; 7:164-169
- 141 Memon RA, Feingold KR, Moser AH, et al. Differential effects of interleukin-1 and tumor necrosis factor on ketogenesis. *Am J Physiol* 1992; 263:E301-309
- 142 Beutler B, Cerami A. Cachectin and tumour necrosis factor as two sides of the same biological coin. *Nature* 1986; 320:584-588
- 143 Patton JS, Shepard HM, Wilking H, et al. Interferons and tumor necrosis factors have similar catabolic effects on 3T3 L1 cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1986; 83:8313-8317
- 144 Feingold KR, Marshall M, Gulli R, et al. Effect of endotoxin and cytokines on lipoprotein lipase activity in mice. *Arterioscler Thromb* 1994; 14:1866-1872
- 145 Grunfeld C, Gulli R, Moser AH, et al. Effect of tumor necrosis factor administration in vivo on lipoprotein lipase activity in various tissues of the rat. *J Lipid Res* 1989; 30:579-585
- 146 Feingold KR, Soued M, Adi S, et al. Tumor necrosis factor-increased hepatic very-low-density lipoprotein production and increased serum triglyceride levels in diabetic rats. *Diabetes* 1990; 39:1569-1574



- 147 Tripp RJ, Tabares A, Wang H, et al. Altered hepatic production of apolipoproteins B and E in the fasted septic rat: factors in the development of hypertriglyceridemia. *J Surg Res* 1993; 55:465-472
- 148 Hardardottir I, Sipe J, Moser AH, et al. LPS and cytokines regulate extra hepatic mRNA levels of apolipoproteins during the acute phase response in Syrian hamsters. *Biochim Biophys Acta* 1997; 1344:210-220
- 149 Lanza-Jacoby S, Wong SH, Tabares A, et al. Disturbances in the composition of plasma lipoproteins during gram-negative sepsis in the rat. *Biochim Biophys Acta* 1992; 1124:233-240
- 150 Memon RA, Holleran WM, Moser AH, et al. Endotoxin and cytokines increase hepatic sphingolipid biosynthesis and produce lipoproteins enriched in ceramides and sphingomyelin. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18:1257-1265
- 151 Redgrave TG, Rakic V, Mortimer BC, et al. Effects of sphingomyelin and phosphatidylcholine acyl chains on the clearance of triacylglycerol-rich lipoproteins from plasma. Studies with lipid emulsions in rats. *Biochim Biophys Acta* 1992; 1126:65-72
- 152 Havel RJ. Remnant lipoproteins as therapeutic targets. *Curr Opin Lipidol* 2000; 11:615-620
- 153 Malloy MJ, Kane JP. A risk factor for atherosclerosis: triglyceride-rich lipoproteins. *Adv Intern Med* 2001; 47:111-136
- 154 Ginsberg HN. New perspectives on atherogenesis: role of abnormal triglyceride-rich lipoprotein metabolism. *Circulation* 2002; 106:2137-2142
- 155 Gianturco SH, Eskin SG, Navarro LT, et al. Abnormal effects of hypertriacylglycerolemic very low-density lipoproteins on 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase activity and viability of cultured bovine aortic endothelial cells. *Biochim Biophys Acta* 1980; 618:143-152
- 156 Feingold KR, Pollock AS, Moser AH, et al. Discordant regulation of proteins of cholesterol metabolism during the acute phase response. *J Lipid Res* 1995; 36:1474-1482
- 157 Mookerjee S, Coolbear T, Sarkar ML. Key role of dolichol phosphate in glycoprotein biosynthesis. *Can J Biochem Cell Biol* 1983; 61:1032-1040

- 158 Sarkar M, Mookerjea S. Differential effect of inflammation and dexamethasone on dolichol and dolichol phosphate synthesis. *Biochem Cell Biol* 1988; 66:1265-1269
- 159 Hardardottir I, Moser AH, Memon R, et al. Effects of TNF, IL-1, and the combination of both cytokines on cholesterol metabolism in Syrian hamsters. *Lymphokine Cytokine Res* 1994; 13:161-166
- 160 Memon RA, Shechter I, Moser AH, et al. Endotoxin, tumor necrosis factor, and interleukin-1 decrease hepatic squalene synthase activity, protein, and mRNA levels in Syrian hamsters. *J Lipid Res* 1997; 38:1620-1629
- 161 Chien JY, Jerng JS, Yu CJ, et al. Low serum level of high-density lipoprotein cholesterol is a poor prognostic factor for severe sepsis. *Crit Care Med* 2005; 33:1688-1693
- 162 Mooser V, Berger MM, Tappy L, et al. Major reduction in plasma Lp(a) levels during sepsis and burns. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20:1137-1142
- 163 van Leeuwen HJ, Heezius EC, Dallinga GM, et al. Lipoprotein metabolism in patients with severe sepsis. *Crit Care Med* 2003; 31:1359-1366
- 164 Alvarez C, Ramos A. Lipids, lipoproteins, and apoproteins in serum during infection. *Clin Chem* 1986; 32:142-145
- 165 Fraunberger P, Pilz G, Cremer P, et al. Association of serum tumor necrosis factor levels with decrease of cholesterol during septic shock. *Shock* 1998; 10:359-363
- 166 Djoumessi S. Serum lipids and lipoproteins during malaria infection. *Pathol Biol (Paris)* 1989; 37:909-911
- 167 Pussinen PJ, Jauhiainen M, Vilkkuna-Rautiainen T, et al. Periodontitis decreases the antiatherogenic potency of high density lipoprotein. *J Lipid Res* 2004; 45:139-147
- 168 Iscan A, Yigitoglu R, Onag A, et al. Should children with infection be tested for lipid, lipoprotein and apolipoprotein? *Acta Paediatr Jpn* 1998; 40:47-51
- 169 Vermont CL, den Brinker M, Kakeci N, et al. Serum lipids and disease severity in children with severe meningococcal sepsis. *Crit Care Med* 2005; 33:1610-1615
- 170 Gordon BR, Parker TS, Levine DM, et al. Relationship of hypolipidemia to cytokine concentrations and outcomes in critically ill surgical patients. *Crit Care Med* 2001; 29:1563-1568

- 171 Crook MA, Velauthar U, Moran L, et al. Hypocholesterolaemia in a hospital population. *Ann Clin Biochem* 1999; 36 ( Pt 5):613-616
- 172 Fraunberger P, Hahn J, Holler E, et al. Serum cholesterol levels in neutropenic patients with fever. *Clin Chem Lab Med* 2002; 40:304-307
- 173 Rosenzweig IB, Wiebe DA, Borden EC, et al. Plasma lipoprotein changes in humans induced by beta-interferon. *Atherosclerosis* 1987; 67:261-267
- 174 Spriggs DR, Sherman ML, Michie H, et al. Recombinant human tumor necrosis factor administered as a 24-hour intravenous infusion. A phase I and pharmacologic study. *J Natl Cancer Inst* 1988; 80:1039-1044
- 175 Nimer SD, Champlin RE, Golde DW. Serum cholesterol-lowering activity of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Jama* 1988; 260:3297-3300
- 176 Stoudemire JB, Garnick MB. Effects of recombinant human macrophage colony-stimulating factor on plasma cholesterol levels. *Blood* 1991; 77:750-755
- 177 Hudgins LC, Parker TS, Levine DM, et al. A single intravenous dose of endotoxin rapidly alters serum lipoproteins and lipid transfer proteins in normal volunteers. *J Lipid Res* 2003; 44:1489-1498
- 178 Ettinger WH, Miller LA, Smith TK, et al. Effect of interleukin-1 alpha on lipoprotein lipids in cynomolgus monkeys: comparison to tumor necrosis factor. *Biochim Biophys Acta* 1992; 1128:186-192
- 179 Bjorkhem I, Eggertsen G. Genes involved in initial steps of bile acid synthesis. *Curr Opin Lipidol* 2001; 12:97-103
- 180 Russell DW. The enzymes, regulation, and genetics of bile acid synthesis. *Annu Rev Biochem* 2003; 72:137-174
- 181 Yu L, Hammer RE, Li-Hawkins J, et al. Disruption of *Abcg5* and *Abcg8* in mice reveals their crucial role in biliary cholesterol secretion. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99:16237-16242
- 182 Yu L, Li-Hawkins J, Hammer RE, et al. Overexpression of *ABCG5* and *ABCG8* promotes biliary cholesterol secretion and reduces fractional absorption of dietary cholesterol. *J Clin Invest* 2002; 110:671-680
- 183 Feingold KR, Spady DK, Pollock AS, et al. Endotoxin, TNF, and IL-1 decrease cholesterol 7 alpha-hydroxylase mRNA levels and activity. *J Lipid Res* 1996; 37:223-228

- 184 Memon RA, Moser AH, Shigenaga JK, et al. In vivo and in vitro regulation of sterol 27-hydroxylase in the liver during the acute phase response. potential role of hepatocyte nuclear factor-1. *J Biol Chem* 2001; 276:30118-30126
- 185 Green RM, Beier D, Gollan JL. Regulation of hepatocyte bile salt transporters by endotoxin and inflammatory cytokines in rodents. *Gastroenterology* 1996; 111:193-198
- 186 Hartmann G, Cheung AK, Piquette-Miller M. Inflammatory cytokines, but not bile acids, regulate expression of murine hepatic anion transporters in endotoxemia. *J Pharmacol Exp Ther* 2002; 303:273-281
- 187 Vos TA, Hooiveld GJ, Koning H, et al. Up-regulation of the multidrug resistance genes, Mrp1 and Mdr1b, and down-regulation of the organic anion transporter, Mrp2, and the bile salt transporter, Spgp, in endotoxemic rat liver. *Hepatology* 1998; 28:1637-1644
- 188 Khovidhunkit W, Moser AH, Shigenaga JK, et al. Endotoxin down-regulates ABCG5 and ABCG8 in mouse liver and ABCA1 and ABCG1 in J774 murine macrophages: differential role of LXR. *J Lipid Res* 2003; 44:1728-1736
- 189 Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE, et al. Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N Engl J Med* 1989; 320:915-924
- 190 Memon RA, Staprans I, Noor M, et al. Infection and inflammation induce LDL oxidation in vivo. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20:1536-1542
- 191 Liuba P, Persson J, Luoma J, et al. Acute infections in children are accompanied by oxidative modification of LDL and decrease of HDL cholesterol, and are followed by thickening of carotid intima-media. *Eur Heart J* 2003; 24:515-521
- 192 Pepys MB, Hirschfield GM. C-reactive protein: a critical update. *J Clin Invest* 2003; 111:1805-1812
- 193 de Beer FC, Soutar AK, Baltz ML, et al. Low density lipoprotein and very low density lipoprotein are selectively bound by aggregated C-reactive protein. *J Exp Med* 1982; 156:230-242
- 194 Ridker PM, Wilson PW, Grundy SM. Should C-reactive protein be added to metabolic syndrome and to assessment of global cardiovascular risk? *Circulation* 2004; 109:2818-2825

- 195 Haffner SM. The metabolic syndrome: inflammation, diabetes mellitus, and cardiovascular disease. *Am J Cardiol* 2006; 97:3A-11A
- 196 Ridker PM, Silvertown JD. Inflammation, C-reactive protein, and atherothrombosis. *J Periodontol* 2008; 79:1544-1551
- 197 Abdellaoui A, Al-Khaffaf H. C-reactive protein (CRP) as a marker in peripheral vascular disease. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2007; 34:18-22
- 198 Ridker PM. C-reactive protein and the prediction of cardiovascular events among those at intermediate risk: moving an inflammatory hypothesis toward consensus. *J Am Coll Cardiol* 2007; 49:2129-2138
- 199 Ben-Yehuda O. High-sensitivity C-reactive protein in every chart? The use of biomarkers in individual patients. *J Am Coll Cardiol* 2007; 49:2139-2141
- 200 Zwaka TP, Hombach V, Torzewski J. C-reactive protein-mediated low density lipoprotein uptake by macrophages: implications for atherosclerosis. *Circulation* 2001; 103:1194-1197
- 201 Dennis EA. Diversity of group types, regulation, and function of phospholipase A2. *J Biol Chem* 1994; 269:13057-13060
- 202 Hakala JK, Oorni K, Pentikainen MO, et al. Lipolysis of LDL by human secretory phospholipase A(2) induces particle fusion and enhances the retention of LDL to human aortic proteoglycans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21:1053-1058
- 203 Divchev D, Schieffer B. The secretory phospholipase A2 group IIA: a missing link between inflammation, activated renin-angiotensin system, and atherogenesis? *Vasc Health Risk Manag* 2008; 4:597-604
- 204 Heinecke JW, Suits AG, Aviram M, et al. Phagocytosis of lipase-aggregated low density lipoprotein promotes macrophage foam cell formation. Sequential morphological and biochemical events. *Arterioscler Thromb* 1991; 11:1643-1651
- 205 Aviram M, Maor I. Phospholipase A2-modified LDL is taken up at enhanced rate by macrophages. *Biochem Biophys Res Commun* 1992; 185:465-472
- 206 Ivandic B, Castellani LW, Wang XP, et al. Role of group II secretory phospholipase A2 in atherosclerosis: 1. Increased atherogenesis and altered lipoproteins in transgenic mice expressing group IIA phospholipase A2. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19:1284-1290

- 207 de Beer FC, de Beer MC, van der Westhuyzen DR, et al. Secretory non-pancreatic phospholipase A2: influence on lipoprotein metabolism. *J Lipid Res* 1997; 38:2232-2239
- 208 Peilot H, Rosengren B, Bondjers G, et al. Interferon-gamma induces secretory group IIA phospholipase A2 in human arterial smooth muscle cells. Involvement of cell differentiation, STAT-3 activation, and modulation by other cytokines. *J Biol Chem* 2000; 275:22895-22904
- 209 Antonio V, Brouillet A, Janvier B, et al. Transcriptional regulation of the rat type IIA phospholipase A2 gene by cAMP and interleukin-1beta in vascular smooth muscle cells: interplay of the CCAAT/enhancer binding protein (C/EBP), nuclear factor-kappaB and Ets transcription factors. *Biochem J* 2002; 368:415-424
- 210 Menschikowski M, Rosner-Schiering A, Eckey R, et al. Expression of secretory group IIA phospholipase A(2) in relation to the presence of microbial agents, macrophage infiltrates, and transcripts of proinflammatory cytokines in human aortic tissues. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20:751-762
- 211 Xu XX, Tabas I. Sphingomyelinase enhances low density lipoprotein uptake and ability to induce cholesteryl ester accumulation in macrophages. *J Biol Chem* 1991; 266:24849-24858
- 212 Schissel SL, Tweedie-Hardman J, Rapp JH, et al. Rabbit aorta and human atherosclerotic lesions hydrolyze the sphingomyelin of retained low-density lipoprotein. Proposed role for arterial-wall sphingomyelinase in subendothelial retention and aggregation of atherogenic lipoproteins. *J Clin Invest* 1996; 98:1455-1464
- 213 Mukhin DN, Chao FF, Kruth HS. Glycosphingolipid accumulation in the aortic wall is another feature of human atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15:1607-1615
- 214 Jeong T, Schissel SL, Tabas I, et al. Increased sphingomyelin content of plasma lipoproteins in apolipoprotein E knockout mice reflects combined production and catabolic defects and enhances reactivity with mammalian sphingomyelinase. *J Clin Invest* 1998; 101:905-912

- 215 Jiang XC, Paultre F, Pearson TA, et al. Plasma sphingomyelin level as a risk factor for coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20:2614-2618
- 216 Memon RA, Holleran WM, Uchida Y, et al. Regulation of glycosphingolipid metabolism in liver during the acute phase response. *J Biol Chem* 1999; 274:19707-19713
- 217 Goldstein JL, Brown MS. Regulation of the mevalonate pathway. *Nature* 1990; 343:425-430
- 218 Brown MS, Goldstein JL. The SREBP pathway: regulation of cholesterol metabolism by proteolysis of a membrane-bound transcription factor. *Cell* 1997; 89:331-340
- 219 Stopeck AT, Nicholson AC, Mancini FP, et al. Cytokine regulation of low density lipoprotein receptor gene transcription in HepG2 cells. *J Biol Chem* 1993; 268:17489-17494
- 220 Liu J, Streiff R, Zhang YL, et al. Novel mechanism of transcriptional activation of hepatic LDL receptor by oncostatin M. *J Lipid Res* 1997; 38:2035-2048
- 221 Gierens H, Nauck M, Roth M, et al. Interleukin-6 stimulates LDL receptor gene expression via activation of sterol-responsive and Sp1 binding elements. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20:1777-1783
- 222 Liao W, Rudling M, Angelin B. Endotoxin suppresses mouse hepatic low-density lipoprotein-receptor expression via a pathway independent of the toll-like receptor 4. *Hepatology* 1999; 30:1252-1256
- 223 Scanu AM. Lipoprotein(a) and the atherothrombotic process: mechanistic insights and clinical implications. *Curr Atheroscler Rep* 2003; 5:106-113
- 224 Rader DJ, Cain W, Zech LA, et al. Variation in lipoprotein(a) concentrations among individuals with the same apolipoprotein (a) isoform is determined by the rate of lipoprotein(a) production. *J Clin Invest* 1993; 91:443-447
- 225 Espeland MA, Marcovina SM, Miller V, et al. Effect of postmenopausal hormone therapy on lipoprotein(a) concentration. PEPI Investigators. Postmenopausal Estrogen/Progestin Interventions. *Circulation* 1998; 97:979-986
- 226 Thillet J, Doucet C, Issad B, et al. Elevated Lp(a) levels in patients with end-stage renal disease. *Am J Kidney Dis* 1994; 23:620-621

- 227 Fontana P, Mooser V, Bovet P, et al. Dose-dependent inverse relationship between alcohol consumption and serum Lp(a) levels in black African males. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19:1075-1082
- 228 Periard D, Telenti A, Sudre P, et al. Atherogenic dyslipidemia in HIV-infected individuals treated with protease inhibitors. The Swiss HIV Cohort Study. *Circulation* 1999; 100:700-705
- 229 Karabina SA, Elisaf MC, Goudevenos J, et al. PAF-acetylhydrolase activity of Lp(a) before and during Cu(2+)-induced oxidative modification in vitro. *Atherosclerosis* 1996; 125:121-134
- 230 Clarke R, Peden JF, Hopewell JC, et al. Genetic variants associated with Lp(a) lipoprotein level and coronary disease. *N Engl J Med* 2009; 361:2518-2528
- 231 Maeda S, Abe A, Seishima M, et al. Transient changes of serum lipoprotein(a) as an acute phase protein. *Atherosclerosis* 1989; 78:145-150
- 232 Wallberg-Jonsson S, Uddhammar A, Dahlen G, et al. Lipoprotein(a) in relation to acute phase reaction in patients with rheumatoid arthritis and polymyalgia rheumatica. *Scand J Clin Lab Invest* 1995; 55:309-315
- 233 Slunga L, Johnson O, Dahlen GH, et al. Lipoprotein(a) and acute-phase proteins in acute myocardial infarction. *Scand J Clin Lab Invest* 1992; 52:95-101
- 234 Andreassen AK, Berg K, Torsvik H. Changes in Lp(a) lipoprotein and other plasma proteins during acute myocardial infarction. *Clin Genet* 1994; 46:410-416
- 235 Azrolan N, Gavish D, Breslow JL. Plasma lipoprotein(a) concentration is controlled by apolipoprotein(a) (apo(a)) protein size and the abundance of hepatic apo(a) mRNA in a cynomolgus monkey model. *J Biol Chem* 1991; 266:13866-13872
- 236 Ramharack R, Barkalow D, Spahr MA. Dominant negative effect of TGF-beta1 and TNF-alpha on basal and IL-6-induced lipoprotein(a) and apolipoprotein(a) mRNA expression in primary monkey hepatocyte cultures. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18:984-990
- 237 Wade DP, Clarke JG, Lindahl GE, et al. 5' control regions of the apolipoprotein(a) gene and members of the related plasminogen gene family. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993; 90:1369-1373



- 238 Anuurad E, Rubin J, Chiem A, et al. High levels of inflammatory biomarkers are associated with increased allele-specific apolipoprotein(a) levels in African-Americans. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93:1482-1488
- 239 Wu A, Hinds CJ, Thiernemann C. High-density lipoproteins in sepsis and septic shock: metabolism, actions, and therapeutic applications. *Shock* 2004; 21:210-221
- 240 Cockerill GW, Rye KA, Gamble JR, et al. High-density lipoproteins inhibit cytokine-induced expression of endothelial cell adhesion molecules. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15:1987-1994
- 241 Cockerill GW, Huehns TY, Weerasinghe A, et al. Elevation of plasma high-density lipoprotein concentration reduces interleukin-1-induced expression of E-selectin in an in vivo model of acute inflammation. *Circulation* 2001; 103:108-112
- 242 Gong M, Wilson M, Kelly T, et al. HDL-associated estradiol stimulates endothelial NO synthase and vasodilation in an SR-BI-dependent manner. *J Clin Invest* 2003; 111:1579-1587
- 243 Wurfel MM, Kunitake ST, Lichenstein H, et al. Lipopolysaccharide (LPS)-binding protein is carried on lipoproteins and acts as a cofactor in the neutralization of LPS. *J Exp Med* 1994; 180:1025-1035
- 244 Hailman E, Albers JJ, Wolfbauer G, et al. Neutralization and transfer of lipopolysaccharide by phospholipid transfer protein. *J Biol Chem* 1996; 271:12172-12178
- 245 Hailman E, Lichenstein HS, Wurfel MM, et al. Lipopolysaccharide (LPS)-binding protein accelerates the binding of LPS to CD14. *J Exp Med* 1994; 179:269-277
- 246 Vreugdenhil AC, Snoek AM, van 't Veer C, et al. LPS-binding protein circulates in association with apoB-containing lipoproteins and enhances endotoxin-LDL/VLDL interaction. *J Clin Invest* 2001; 107:225-234
- 247 Vreugdenhil AC, Dentener MA, Snoek AM, et al. Lipopolysaccharide binding protein and serum amyloid A secretion by human intestinal epithelial cells during the acute phase response. *J Immunol* 1999; 163:2792-2798
- 248 Dentener MA, Vreugdenhil AC, Hoet PH, et al. Production of the acute-phase protein lipopolysaccharide-binding protein by respiratory type II epithelial

- cells: implications for local defense to bacterial endotoxins. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2000; 23:146-153
- 249 Jack RS, Fan X, Bernheiden M, et al. Lipopolysaccharide-binding protein is required to combat a murine gram-negative bacterial infection. *Nature* 1997; 389:742-745
- 250 Lamping N, Dettmer R, Schroder NW, et al. LPS-binding protein protects mice from septic shock caused by LPS or gram-negative bacteria. *J Clin Invest* 1998; 101:2065-2071
- 251 Pajkrt D, Doran JE, Koster F, et al. Antiinflammatory effects of reconstituted high-density lipoprotein during human endotoxemia. *J Exp Med* 1996; 184:1601-1608
- 252 Khovidhunkit W, Memon RA, Feingold KR, et al. Infection and inflammation-induced proatherogenic changes of lipoproteins. *J Infect Dis* 2000; 181 Suppl 3:S462-472
- 253 Van Lenten BJ, Hama SY, de Beer FC, et al. Anti-inflammatory HDL becomes pro-inflammatory during the acute phase response. Loss of protective effect of HDL against LDL oxidation in aortic wall cell cocultures. *J Clin Invest* 1995; 96:2758-2767
- 254 Van Lenten BJ, Wagner AC, Nayak DP, et al. High-density lipoprotein loses its anti-inflammatory properties during acute influenza a infection. *Circulation* 2001; 103:2283-2288
- 255 Cabana VG, Reardon CA, Feng N, et al. Serum paraoxonase: effect of the apolipoprotein composition of HDL and the acute phase response. *J Lipid Res* 2003; 44:780-792
- 256 Manttari M, Manninen V, Huttunen JK, et al. Serum ferritin and ceruloplasmin as coronary risk factors. *Eur Heart J* 1994; 15:1599-1603
- 257 Goldstein IM, Kaplan HB, Edelson HS, et al. A new function for ceruloplasmin as an acute-phase reactant in inflammation: a scavenger of superoxide anion radicals. *Trans Assoc Am Physicians* 1979; 92:360-369
- 258 Buttenschoen K, Buttenschoen DC, Berger D, et al. Endotoxemia and acute-phase proteins in major abdominal surgery. *Am J Surg* 2001; 181:36-43
- 259 Rosenberg ME, Silkensen J. Clusterin: physiologic and pathophysiologic considerations. *Int J Biochem Cell Biol* 1995; 27:633-645

- 260 Hardardottir I, Kunitake ST, Moser AH, et al. Endotoxin and cytokines increase hepatic messenger RNA levels and serum concentrations of apolipoprotein J (clusterin) in Syrian hamsters. *J Clin Invest* 1994; 94:1304-1309
- 261 Baranova I, Vishnyakova T, Bocharov A, et al. Lipopolysaccharide down regulates both scavenger receptor B1 and ATP binding cassette transporter A1 in RAW cells. *Infect Immun* 2002; 70:2995-3003
- 262 Kuivenhoven JA, Pritchard H, Hill J, et al. The molecular pathology of lecithin:cholesterol acyltransferase (LCAT) deficiency syndromes. *J Lipid Res* 1997; 38:191-205
- 263 Skretting G, Gjernes E, Prydz H. Regulation of lecithin:cholesterol acyltransferase by TGF-beta and interleukin-6. *Biochim Biophys Acta* 1995; 1255:267-272
- 264 Bolin DJ, Jonas A. Sphingomyelin inhibits the lecithin-cholesterol acyltransferase reaction with reconstituted high density lipoproteins by decreasing enzyme binding. *J Biol Chem* 1996; 271:19152-19158
- 265 Cabana VG, Siegel JN, Sabesin SM. Effects of the acute phase response on the concentration and density distribution of plasma lipids and apolipoproteins. *J Lipid Res* 1989; 30:39-49
- 266 Coetzee GA, Strachan AF, van der Westhuyzen DR, et al. Serum amyloid A-containing human high density lipoprotein 3. Density, size, and apolipoprotein composition. *J Biol Chem* 1986; 261:9644-9651
- 267 Jiang XC, Bruce C. Regulation of murine plasma phospholipid transfer protein activity and mRNA levels by lipopolysaccharide and high cholesterol diet. *J Biol Chem* 1995; 270:17133-17138
- 268 Barlage S, Frohlich D, Bottcher A, et al. ApoE-containing high density lipoproteins and phospholipid transfer protein activity increase in patients with a systemic inflammatory response. *J Lipid Res* 2001; 42:281-290
- 269 Oka T, Kujiraoka T, Ito M, et al. Distribution of phospholipid transfer protein in human plasma: presence of two forms of phospholipid transfer protein, one catalytically active and the other inactive. *J Lipid Res* 2000; 41:1651-1657
- 270 Hardardottir I, Moser AH, Fuller J, et al. Endotoxin and cytokines decrease serum levels and extra hepatic protein and mRNA levels of cholesteryl ester transfer protein in syrian hamsters. *J Clin Invest* 1996; 97:2585-2592

- 271 Masucci-Magoulas L, Moulin P, Jiang XC, et al. Decreased cholesteryl ester transfer protein (CETP) mRNA and protein and increased high density lipoprotein following lipopolysaccharide administration in human CETP transgenic mice. *J Clin Invest* 1995; 95:1587-1594
- 272 Khovidhunkit W, Moser AH, Shigenaga JK, et al. Regulation of scavenger receptor class B type I in hamster liver and Hep3B cells by endotoxin and cytokines. *J Lipid Res* 2001; 42:1636-1644
- 273 Acton S, Rigotti A, Landschulz KT, et al. Identification of scavenger receptor SR-BI as a high density lipoprotein receptor. *Science* 1996; 271:518-520
- 274 Feingold KR, Memon RA, Moser AH, et al. Endotoxin and interleukin-1 decrease hepatic lipase mRNA levels. *Atherosclerosis* 1999; 142:379-387
- 275 Hoffman JS, Benditt EP. Plasma clearance kinetics of the amyloid-related high density lipoprotein apoprotein, serum amyloid protein (apoSAA), in the mouse. Evidence for rapid apoSAA clearance. *J Clin Invest* 1983; 71:926-934
- 276 Ly H, Francone OL, Fielding CJ, et al. Endotoxin and TNF lead to reduced plasma LCAT activity and decreased hepatic LCAT mRNA levels in Syrian hamsters. *J Lipid Res* 1995; 36:1254-1263
- 277 Hosoai H, Webb NR, Glick JM, et al. Expression of serum amyloid A protein in the absence of the acute phase response does not reduce HDL cholesterol or apoA-I levels in human apoA-I transgenic mice. *J Lipid Res* 1999; 40:648-653
- 278 Tietge UJ, Maugeais C, Cain W, et al. Overexpression of secretory phospholipase A(2) causes rapid catabolism and altered tissue uptake of high density lipoprotein cholesteryl ester and apolipoprotein A-I. *J Biol Chem* 2000; 275:10077-10084
- 279 Pruzanski W, de Beer FC, de Beer MC, et al. Serum amyloid A protein enhances the activity of secretory non-pancreatic phospholipase A2. *Biochem J* 1995; 309 ( Pt 2):461-464
- 280 Tietge UJ, Maugeais C, Lund-Katz S, et al. Human secretory phospholipase A2 mediates decreased plasma levels of HDL cholesterol and apoA-I in response to inflammation in human apoA-I transgenic mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22:1213-1218
- 281 Gorshkova IN, Menschikowski M, Jaross W. Alterations in the physiochemical characteristics of low and high density lipoproteins after

- lipolysis with phospholipase A2. A spin-label study. *Biochim Biophys Acta* 1996; 1300:103-113
- 282 Qin S, Kawano K, Bruce C, et al. Phospholipid transfer protein gene knock-out mice have low high density lipoprotein levels, due to hypercatabolism, and accumulate apoA-IV-rich lamellar lipoproteins. *J Lipid Res* 2000; 41:269-276
- 283 Ettinger WH, Varma VK, Sorci-Thomas M, et al. Cytokines decrease apolipoprotein accumulation in medium from Hep G2 cells. *Arterioscler Thromb* 1994; 14:8-13
- 284 Clifton PM, Mackinnon AM, Barter PJ. Effects of serum amyloid A protein (SAA) on composition, size, and density of high density lipoproteins in subjects with myocardial infarction. *J Lipid Res* 1985; 26:1389-1398
- 285 Hoffman JS, Benditt EP. Changes in high density lipoprotein content following endotoxin administration in the mouse. Formation of serum amyloid protein-rich subfractions. *J Biol Chem* 1982; 257:10510-10517
- 286 Lindhorst E, Young D, Bagshaw W, et al. Acute inflammation, acute phase serum amyloid A and cholesterol metabolism in the mouse. *Biochim Biophys Acta* 1997; 1339:143-154
- 287 Pruzanski W, Stefanski E, de Beer FC, et al. Comparative analysis of lipid composition of normal and acute-phase high density lipoproteins. *J Lipid Res* 2000; 41:1035-1047
- 288 Sakaguchi S. Metabolic disorders of serum lipoproteins in endotoxin-poisoned mice: the role of high density lipoprotein (HDL) and triglyceride-rich lipoproteins. *Microbiol Immunol* 1982; 26:1017-1034
- 289 Libby P. Managing the risk of atherosclerosis: the role of high-density lipoprotein. *Am J Cardiol* 2001; 88:3N-8N
- 290 Segrest JP, Li L, Anantharamaiah GM, et al. Structure and function of apolipoprotein A-I and high-density lipoprotein. *Curr Opin Lipidol* 2000; 11:105-115
- 291 Ebersole JL, Cappelli D, Mott G, et al. Systemic manifestations of periodontitis in the non-human primate. *J Periodontal Res* 1999; 34:358-362
- 292 Chenaud C, Merlani PG, Roux-Lombard P, et al. Low apolipoprotein A-I level at intensive care unit admission and systemic inflammatory response syndrome exacerbation. *Crit Care Med* 2004; 32:632-637

- 293 Kallel R, Bekaert ED, Dubois DY, et al. Acute phase proteins and plasma lipoproteins during antimony treatment in infantile visceral leishmaniasis. *Clin Physiol Biochem* 1993; 10:8-12
- 294 Liberopoulos E, Alexandridis G, Bairaktari E, et al. Severe hypocholesterolemia with reduced serum lipoprotein(a) in a patient with visceral leishmaniasis. *Ann Clin Lab Sci* 2002; 32:305-308
- 295 Baumann H, Jahreis GP, Gaines KC. Synthesis and regulation of acute phase plasma proteins in primary cultures of mouse hepatocytes. *J Cell Biol* 1983; 97:866-876
- 296 Delers F, Mangeney M, Raffa D, et al. Changes in rat liver mRNA for alpha-1-acid-glycoprotein, apolipoprotein E, apolipoprotein B and beta-actin after mouse recombinant tumor necrosis factor injection. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 161:81-88
- 297 Cianflone K, Dahan S, Monge JC, et al. Pathogenesis of carbohydrate-induced hypertriglyceridemia using HepG2 cells as a model system. *Arterioscler Thromb* 1992; 12:271-277
- 298 Oleic acid stimulation of apolipoprotein B secretion. *Nutr Rev* 1990; 48:419-421
- 299 Sato R, Imanaka T, Takatsuki A, et al. Degradation of newly synthesized apolipoprotein B-100 in a pre-Golgi compartment. *J Biol Chem* 1990; 265:11880-11884
- 300 Davis RA, Thrift RN, Wu CC, et al. Apolipoprotein B is both integrated into and translocated across the endoplasmic reticulum membrane. Evidence for two functionally distinct pools. *J Biol Chem* 1990; 265:10005-10011
- 301 Tsai J, Zhang R, Qiu W, et al. Inflammatory NF-kappaB activation promotes hepatic apolipoprotein B100 secretion: evidence for a link between hepatic inflammation and lipoprotein production. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2009; 296:G1287-1298
- 302 Murthy S, Mathur S, Bishop WP, et al. Inhibition of apolipoprotein B secretion by IL-6 is mediated by EGF or an EGF-like molecule in CaCo-2 cells. *J Lipid Res* 1997; 38:206-216
- 303 Mahley RW. Apolipoprotein E: cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. *Science* 1988; 240:622-630

- 304 Shih SJ, Allan C, Grehan S, et al. Duplicated downstream enhancers control expression of the human apolipoprotein E gene in macrophages and adipose tissue. *J Biol Chem* 2000; 275:31567-31572
- 305 Mahley RW, Weisgraber KH, Huang Y. Apolipoprotein E4: a causative factor and therapeutic target in neuropathology, including Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103:5644-5651
- 306 Liberopoulos E, Siamopoulos K, Elisaf M. Apolipoprotein E and renal disease. *Am J Kidney Dis* 2004; 43:223-233
- 307 Moore RJ, Chamberlain RM, Khuri FR. Apolipoprotein E and the risk of breast cancer in African-American and non-Hispanic white women. A review. *Oncology* 2004; 66:79-93
- 308 Werb Z, Chin JR. Endotoxin suppresses expression of apoprotein E by mouse macrophages in vivo and in culture. A biochemical and genetic study. *J Biol Chem* 1983; 258:10642-10648
- 309 Berg DT, Calnek DS, Grinnell BW. The human apolipoprotein E gene is negatively regulated in human liver HepG2 cells by the transcription factor BEF-1. *J Biol Chem* 1995; 270:15447-15450
- 310 Berg DT, Calnek DS, Grinnell BW. Trans-repressor BEF-1 phosphorylation. A potential control mechanism for human ApoE gene regulation. *J Biol Chem* 1996; 271:4589-4592
- 311 Li L, Thompson PA, Kitchens RL. Infection induces a positive acute phase apolipoprotein E response from a negative acute phase gene: role of hepatic LDL receptors. *J Lipid Res* 2008; 49:1782-1793
- 312 Mahley RW, Rall SC, Jr. Apolipoprotein E: far more than a lipid transport protein. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2000; 1:507-537
- 313 Jong MC, Hofker MH, Havekes LM. Role of ApoCs in lipoprotein metabolism: functional differences between ApoC1, ApoC2, and ApoC3. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19:472-484
- 314 Shen P, Howlett GJ. Alteration in rat apolipoprotein C-III gene expression and lipoprotein composition during inflammation. *Inflammation* 1993; 17:153-166
- 315 Berbee JF, van der Hoogt CC, de Haas CJ, et al. Plasma apolipoprotein CI correlates with increased survival in patients with severe sepsis. *Intensive Care Med* 2008; 34:907-911

- 316 Hubsch AP, Casas AT, Doran JE. Protective effects of reconstituted high-density lipoprotein in rabbit gram-negative bacteremia models. *J Lab Clin Med* 1995; 126:548-558
- 317 Hubsch AP, Powell FS, Lerch PG, et al. A reconstituted, apolipoprotein A-I containing lipoprotein reduces tumor necrosis factor release and attenuates shock in endotoxemic rabbits. *Circ Shock* 1993; 40:14-23
- 318 Casas AT, Hubsch AP, Doran JE. Effects of reconstituted high-density lipoprotein in persistent gram-negative bacteremia. *Am Surg* 1996; 62:350-355
- 319 Read TE, Grunfeld C, Kumwenda Z, et al. Triglyceride-rich lipoproteins improve survival when given after endotoxin in rats. *Surgery* 1995; 117:62-67
- 320 Read TE, Grunfeld C, Kumwenda ZL, et al. Triglyceride-rich lipoproteins prevent septic death in rats. *J Exp Med* 1995; 182:267-272
- 321 Feingold KR, Funk JL, Moser AH, et al. Role for circulating lipoproteins in protection from endotoxin toxicity. *Infect Immun* 1995; 63:2041-2046
- 322 Levine DM, Parker TS, Donnelly TM, et al. In vivo protection against endotoxin by plasma high density lipoprotein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993; 90:12040-12044
- 323 Netea MG, Demacker PN, Kullberg BJ, et al. Low-density lipoprotein receptor-deficient mice are protected against lethal endotoxemia and severe gram-negative infections. *J Clin Invest* 1996; 97:1366-1372
- 324 Netea MG, Demacker PN, Kullberg BJ, et al. Bacterial lipopolysaccharide binds and stimulates cytokine-producing cells before neutralization by endogenous lipoproteins can occur. *Cytokine* 1998; 10:766-772
- 325 Harris HW, Johnson JA, Wigmore SJ. Endogenous lipoproteins impact the response to endotoxin in humans. *Crit Care Med* 2002; 30:23-31
- 326 Read TE, Harris HW, Grunfeld C, et al. Chylomicrons enhance endotoxin excretion in bile. *Infect Immun* 1993; 61:3496-3502
- 327 Harris HW, Grunfeld C, Feingold KR, et al. Chylomicrons alter the fate of endotoxin, decreasing tumor necrosis factor release and preventing death. *J Clin Invest* 1993; 91:1028-1034
- 328 Kumwenda ZL, Wong CB, Johnson JA, et al. Chylomicron-bound endotoxin selectively inhibits NF-kappaB activation in rat hepatocytes. *Shock* 2002; 18:182-188



- 329 Flegel WA, Wolpl A, Mannel DN, et al. Inhibition of endotoxin-induced activation of human monocytes by human lipoproteins. *Infect Immun* 1989; 57:2237-2245
- 330 Cavaillon JM, Fitting C, Haeffner-Cavaillon N, et al. Cytokine response by monocytes and macrophages to free and lipoprotein-bound lipopolysaccharide. *Infect Immun* 1990; 58:2375-2382
- 331 Baumberger C, Ulevitch RJ, Dayer JM. Modulation of endotoxic activity of lipopolysaccharide by high-density lipoprotein. *Pathobiology* 1991; 59:378-383
- 332 Weinstock C, Ullrich H, Hohe R, et al. Low density lipoproteins inhibit endotoxin activation of monocytes. *Arterioscler Thromb* 1992; 12:341-347
- 333 Flegel WA, Baumstark MW, Weinstock C, et al. Prevention of endotoxin-induced monokine release by human low- and high-density lipoproteins and by apolipoprotein A-I. *Infect Immun* 1993; 61:5140-5146
- 334 Kitchens RL, Wolfbauer G, Albers JJ, et al. Plasma lipoproteins promote the release of bacterial lipopolysaccharide from the monocyte cell surface. *J Biol Chem* 1999; 274:34116-34122
- 335 Ulevitch RJ, Johnston AR, Weinstein DB. New function for high density lipoproteins. Their participation in intravascular reactions of bacterial lipopolysaccharides. *J Clin Invest* 1979; 64:1516-1524
- 336 Munford RS, Hall CL, Lipton JM, et al. Biological activity, lipoprotein-binding behavior, and in vivo disposition of extracted and native forms of *Salmonella typhimurium* lipopolysaccharides. *J Clin Invest* 1982; 70:877-888
- 337 Van Lenten BJ, Fogelman AM, Haberland ME, et al. The role of lipoproteins and receptor-mediated endocytosis in the transport of bacterial lipopolysaccharide. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1986; 83:2704-2708
- 338 Harris HW, Grunfeld C, Feingold KR, et al. Human very low density lipoproteins and chylomicrons can protect against endotoxin-induced death in mice. *J Clin Invest* 1990; 86:696-702
- 339 Harris HW, Eichbaum EB, Kane JP, et al. Detection of endotoxin in triglyceride-rich lipoproteins in vitro. *J Lab Clin Med* 1991; 118:186-193
- 340 Emancipator K, Csako G, Elin RJ. In vitro inactivation of bacterial endotoxin by human lipoproteins and apolipoproteins. *Infect Immun* 1992; 60:596-601

- 341 Eichbaum EB, Harris HW, Kane JP, et al. Chylomicrons can inhibit endotoxin activity in vitro. *J Surg Res* 1991; 51:413-416
- 342 Netea MG, de Bont N, Demacker PN, et al. Lipoprotein(a) inhibits lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor alpha production by human mononuclear cells. *Infect Immun* 1998; 66:2365-2367
- 343 Parker TS, Levine DM, Chang JC, et al. Reconstituted high-density lipoprotein neutralizes gram-negative bacterial lipopolysaccharides in human whole blood. *Infect Immun* 1995; 63:253-258
- 344 Grunfeld C, Marshall M, Shigenaga JK, et al. Lipoproteins inhibit macrophage activation by lipoteichoic acid. *J Lipid Res* 1999; 40:245-252
- 345 Bhakdi S, Tranum-Jensen J, Utermann G, et al. Binding and partial inactivation of *Staphylococcus aureus* alpha-toxin by human plasma low density lipoprotein. *J Biol Chem* 1983; 258:5899-5904
- 346 Levels JH, Abraham PR, van den Ende A, et al. Distribution and kinetics of lipoprotein-bound endotoxin. *Infect Immun* 2001; 69:2821-2828
- 347 Levels JH, Abraham PR, van Barreveld EP, et al. Distribution and kinetics of lipoprotein-bound lipoteichoic acid. *Infect Immun* 2003; 71:3280-3284
- 348 Kitchens RL, Thompson PA. Impact of sepsis-induced changes in plasma on LPS interactions with monocytes and plasma lipoproteins: roles of soluble CD14, LBP, and acute phase lipoproteins. *J Endotoxin Res* 2003; 9:113-118
- 349 Kitchens RL, Thompson PA, Munford RS, et al. Acute inflammation and infection maintain circulating phospholipid levels and enhance lipopolysaccharide binding to plasma lipoproteins. *J Lipid Res* 2003; 44:2339-2348
- 350 Yan JJ, Jung JS, Lee JE, et al. Therapeutic effects of lysophosphatidylcholine in experimental sepsis. *Nat Med* 2004; 10:161-167
- 351 Park CT, Wright SD. Plasma lipopolysaccharide-binding protein is found associated with a particle containing apolipoprotein A-I, phospholipid, and factor H-related proteins. *J Biol Chem* 1996; 271:18054-18060
- 352 Vreugdenhil AC, Rousseau CH, Hartung T, et al. Lipopolysaccharide (LPS)-binding protein mediates LPS detoxification by chylomicrons. *J Immunol* 2003; 170:1399-1405
- 353 Recalde D, Ostos MA, Badell E, et al. Human apolipoprotein A-IV reduces secretion of proinflammatory cytokines and atherosclerotic effects of a chronic

- infection mimicked by lipopolysaccharide. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24:756-761
- 354 Van Oosten M, Rensen PC, Van Amersfoort ES, et al. Apolipoprotein E protects against bacterial lipopolysaccharide-induced lethality. A new therapeutic approach to treat gram-negative sepsis. *J Biol Chem* 2001; 276:8820-8824
- 355 de Bont N, Netea MG, Demacker PN, et al. Apolipoprotein E knock-out mice are highly susceptible to endotoxemia and *Klebsiella pneumoniae* infection. *J Lipid Res* 1999; 40:680-685
- 356 de Bont N, Netea MG, Demacker PN, et al. Apolipoprotein E-deficient mice have an impaired immune response to *Klebsiella pneumoniae*. *Eur J Clin Invest* 2000; 30:818-822
- 357 Walton KA, Cole AL, Yeh M, et al. Specific phospholipid oxidation products inhibit ligand activation of toll-like receptors 4 and 2. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23:1197-1203
- 358 Bochkov VN, Kadl A, Huber J, et al. Protective role of phospholipid oxidation products in endotoxin-induced tissue damage. *Nature* 2002; 419:77-81
- 359 Allen RG, Barrett JT, Campbell BJ. Lipoprotein inhibitor of Newcastle disease virus from chicken lung. *Appl Microbiol* 1971; 21:53-60
- 360 Halonen PE, Toivanen P, Nikkari T. Non-specific serum inhibitors of activity of haemagglutinins of rabies and vesicular stomatitis viruses. *J Gen Virol* 1974; 22:309-318
- 361 Seganti L, Grassi M, Mastromarino P, et al. Activity of human serum lipoproteins on the infectivity of rhabdoviruses. *Microbiologica* 1983; 6:91-99
- 362 Shortridge KF, Ho WK, Oya A, et al. Studies on the inhibitory activities of human serum lipoproteins for Japanese encephalitis virus. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1975; 6:461-466
- 363 Chisari FV, Curtiss LK, Jensen FC. Physiologic concentrations of normal human plasma lipoproteins inhibit the immortalization of peripheral B lymphocytes by the Epstein-Barr virus. *J Clin Invest* 1981; 68:329-336
- 364 Huemer HP, Menzel HJ, Potratz D, et al. Herpes simplex virus binds to human serum lipoprotein. *Intervirology* 1988; 29:68-76

- 365 Owens BJ, Anantharamaiah GM, Kahlon JB, et al. Apolipoprotein A-I and its amphipathic helix peptide analogues inhibit human immunodeficiency virus-induced syncytium formation. *J Clin Invest* 1990; 86:1142-1150
- 366 Srinivas RV, Birkedal B, Owens RJ, et al. Antiviral effects of apolipoprotein A-I and its synthetic amphipathic peptide analogs. *Virology* 1990; 176:48-57
- 367 Martin I, Dubois MC, Saermark T, et al. Apolipoprotein A-1 interacts with the N-terminal fusogenic domains of SIV (simian immunodeficiency virus) GP32 and HIV (human immunodeficiency virus) GP41: implications in viral entry. *Biochem Biophys Res Commun* 1992; 186:95-101
- 368 Kane JP, Hardman DA, Dimpfl JC, et al. Apolipoprotein is responsible for neutralization of xenotropic type C virus by mouse serum. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1979; 76:5957-5961
- 369 Singh IP, Chopra AK, Coppenhaver DH, et al. Lipoproteins account for part of the broad non-specific antiviral activity of human serum. *Antiviral Res* 1999; 42:211-218
- 370 Ho WK. Serum lipoproteins as inhibitors of haemagglutination by rubella virus. *Lipids* 1977; 12:85-91
- 371 Mastromarino P, Seganti L, Orsi N. Relationship between enzymatic modifications of serum low density lipoproteins and their haemagglutination inhibiting activity towards Sindbis virus. *Arch Virol* 1980; 65:37-44
- 372 Mastromarino P, Conti C, Rieti S, et al. Identification of lipid components of human serum lipoproteins involved in the inhibition of Sindbis virus infectivity, hemagglutination, and hemolysis. *Arch Virol* 1988; 103:243-252
- 373 Mastromarino P, Conti C, Rieti S, et al. Involvement of lipids in the interaction of Sindbis virus with goose erythrocytes. *Microbiologica* 1989; 12:113-120
- 374 Karlsson KA. Animal glycosphingolipids as membrane attachment sites for bacteria. *Annu Rev Biochem* 1989; 58:309-350
- 375 Fischer DG, Tal N, Novick D, et al. An antiviral soluble form of the LDL receptor induced by interferon. *Science* 1993; 262:250-253
- 376 Marlovits TC, Zechmeister T, Gruenberger M, et al. Recombinant soluble low density lipoprotein receptor fragment inhibits minor group rhinovirus infection in vitro. *Faseb J* 1998; 12:695-703

- 377 Marlovits TC, Abrahamsberg C, Blaas D. Very-low-density lipoprotein receptor fragment shed from HeLa cells inhibits human rhinovirus infection. *J Virol* 1998; 72:10246-10250
- 378 Hofer F, Gruenberger M, Kowalski H, et al. Members of the low density lipoprotein receptor family mediate cell entry of a minor-group common cold virus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91:1839-1842
- 379 Monazahian M, Bohme I, Bonk S, et al. Low density lipoprotein receptor as a candidate receptor for hepatitis C virus. *J Med Virol* 1999; 57:223-229
- 380 Raper J, Fung R, Ghiso J, et al. Characterization of a novel trypanosome lytic factor from human serum. *Infect Immun* 1999; 67:1910-1916
- 381 Vanhamme L, Paturiaux-Hanocq F, Poelvoorde P, et al. Apolipoprotein L-I is the trypanosome lytic factor of human serum. *Nature* 2003; 422:83-87
- 382 Xu X, Remold HG, Caulfield JP. Potential role for scavenger receptors of human monocytes in the killing of *Schistosoma mansoni*. *Am J Pathol* 1993; 142:685-689
- 383 Sinnis P, Willnow TE, Briones MR, et al. Remnant lipoproteins inhibit malaria sporozoite invasion of hepatocytes. *J Exp Med* 1996; 184:945-954
- 384 Oiknine J, Aviram M. Increased susceptibility to activation and increased uptake of low density lipoprotein by cholesterol-loaded macrophages. *Arterioscler Thromb* 1992; 12:745-753
- 385 Funk JL, Feingold KR, Moser AH, et al. Lipopolysaccharide stimulation of RAW 264.7 macrophages induces lipid accumulation and foam cell formation. *Atherosclerosis* 1993; 98:67-82
- 386 Hauton D, Evans RD. Utilisation of fatty acid and triacylglycerol by rat macrophages: the effect of endotoxin. *Cell Physiol Biochem* 2002; 12:293-304
- 387 Kisilevsky R, Subrahmanyam L. Serum amyloid A changes high density lipoprotein's cellular affinity. A clue to serum amyloid A's principal function. *Lab Invest* 1992; 66:778-785
- 388 Tietge UJ, Maugeais C, Cain W, et al. Acute inflammation increases selective uptake of HDL cholesteryl esters into adrenals of mice overexpressing human sPLA2. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003; 285:E403-411
- 389 Cuthbert JA, Lipsky PE. Regulation of lymphocyte proliferation by cholesterol: the role of endogenous sterol metabolism and low density lipoprotein receptors. *Int J Tissue React* 1987; 9:447-457

- 390 Packard CJ, Shepherd J. Lipoprotein heterogeneity and apolipoprotein B metabolism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17:3542-3556
- 391 Austin MA, Breslow JL, Hennekens CH, et al. Low-density lipoprotein subclass patterns and risk of myocardial infarction. *Jama* 1988; 260:1917-1921
- 392 Campos H, Blijlevens E, McNamara JR, et al. LDL particle size distribution. Results from the Framingham Offspring Study. *Arterioscler Thromb* 1992; 12:1410-1419
- 393 Austin MA, King MC, Vranizan KM, et al. Atherogenic lipoprotein phenotype. A proposed genetic marker for coronary heart disease risk. *Circulation* 1990; 82:495-506
- 394 Selby JV, Austin MA, Newman B, et al. LDL subclass phenotypes and the insulin resistance syndrome in women. *Circulation* 1993; 88:381-387
- 395 Packard CJ. Triacylglycerol-rich lipoproteins and the generation of small, dense low-density lipoprotein. *Biochem Soc Trans* 2003; 31:1066-1069
- 396 Benton JL, Blumenthal RS, Becker DM, et al. Predictors of low-density lipoprotein particle size in a high-risk African-American population. *Am J Cardiol* 2005; 95:1320-1323
- 397 Berneis KK, Krauss RM. Metabolic origins and clinical significance of LDL heterogeneity. *J Lipid Res* 2002; 43:1363-1379
- 398 Krauss RM. Dietary and genetic probes of atherogenic dyslipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25:2265-2272
- 399 Rizzo M, Berneis K. Should we measure routinely the LDL peak particle size? *Int J Cardiol* 2006; 107:166-170
- 400 Kwiterovich PO, Jr. Clinical relevance of the biochemical, metabolic, and genetic factors that influence low-density lipoprotein heterogeneity. *Am J Cardiol* 2002; 90:30i-47i
- 401 Packard C, Caslake M, Shepherd J. The role of small, dense low density lipoprotein (LDL): a new look. *Int J Cardiol* 2000; 74 Suppl 1:S17-22
- 402 Slyper AH. Low-density lipoprotein density and atherosclerosis. Unraveling the connection. *Jama* 1994; 272:305-308
- 403 Austin MA, Krauss RM. Genetic control of low-density-lipoprotein subclasses. *Lancet* 1986; 2:592-595

- 404 Bosse Y, Perusse L, Vohl MC. Genetics of LDL particle heterogeneity: from genetic epidemiology to DNA-based variations. *J Lipid Res* 2004; 45:1008-1026
- 405 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; 107:2361-2368
- 406 Austin MA. Genetic and environmental influences on LDL subclass phenotypes. *Clin Genet* 1994; 46:64-70
- 407 Siri PW, Krauss RM. Influence of dietary carbohydrate and fat on LDL and HDL particle distributions. *Curr Atheroscler Rep* 2005; 7:455-459
- 408 Krauss RM. Dietary and genetic effects on low-density lipoprotein heterogeneity. *Annu Rev Nutr* 2001; 21:283-295
- 409 Shearman AM, Demissie S, Cupples LA, et al. Tobacco smoking, estrogen receptor alpha gene variation and small low density lipoprotein level. *Hum Mol Genet* 2005; 14:2405-2413
- 410 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; 27:242-247
- 411 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; 22:667-673
- 412 Skoglund-Andersson C, Ehrenborg E, Fisher RM, et al. Influence of common variants in the CETP, LPL, HL and APO E genes on LDL heterogeneity in healthy, middle-aged men. *Atherosclerosis* 2003; 167:311-317
- 413 Havel RJ. Genetic underpinnings of LDL size and density: a role for hepatic lipase? *Am J Clin Nutr* 2000; 71:1390-1391
- 414 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
- 415 Hogue JC, Lamarche B, Gaudet D, et al. Genotype of the mutant LDL receptor allele is associated with LDL particle size heterogeneity in familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 2006; 184:163-170

- 416 Nielsen LB. Transfer of low density lipoprotein into the arterial wall and risk of atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1996; 123:1-15
- 417 Anber V, Millar JS, McConnell M, et al. Interaction of very-low-density, intermediate-density, and low-density lipoproteins with human arterial wall proteoglycans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17:2507-2514
- 418 Krauss RM. Atherogenic lipoprotein phenotype and diet-gene interactions. *J Nutr* 2001; 131:340S-343S
- 419 Sattar N, Petrie JR, Jaap AJ. The atherogenic lipoprotein phenotype and vascular endothelial dysfunction. *Atherosclerosis* 1998; 138:229-235
- 420 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; 7:612-617
- 421 Nigon F, Lesnik 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; 32:1741-1753
- 422 Galeano NF, Milne R, Marcel YL, et al. Apoprotein B structure and receptor recognition of triglyceride-rich low density lipoprotein (LDL) is modified in small LDL but not in triglyceride-rich LDL of normal size. *J Biol Chem* 1994; 269:511-519
- 423 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; 39:1263-1273
- 424 Maki KC, Davidson MH, Marx P, et al. Association between elevated plasma fibrinogen and the small, dense low-density lipoprotein phenotype among postmenopausal women. *Am J Cardiol* 2000; 85:451-456
- 425 Kakafika AI, Liberopoulos EN, Mikhailidis DP. Fibrinogen: a predictor of vascular disease. *Curr Pharm Des* 2007; 13:1647-1659
- 426 Festa A, D'Agostino R, Jr., Mykkanen L, et al. Low-density lipoprotein particle size is inversely related to plasminogen activator inhibitor-1 levels. The Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19:605-610



- 427 Carmena R, Duriez P, Fruchart JC. Atherogenic lipoprotein particles in atherosclerosis. *Circulation* 2004; 109:III2-7
- 428 Rizzo M, Pernice V, Frasheri A, et al. Small, dense low-density lipoproteins (LDL) are predictors of cardio- and cerebro-vascular events in subjects with the metabolic syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2009; 70:870-875
- 429 Campos H, Genest JJ, Jr., Blijlevens E, et al. Low density lipoprotein particle size and coronary artery disease. *Arterioscler Thromb* 1992; 12:187-195
- 430 Coresh J, Kwiterovich PO, Jr., Smith HH, et al. Association of plasma triglyceride concentration and LDL particle diameter, density, and chemical composition with premature coronary artery disease in men and women. *J Lipid Res* 1993; 34:1687-1697
- 431 Tornvall P, Karpe F, Carlson LA, et al. Relationships of low density lipoprotein subfractions to angiographically defined coronary artery disease in young survivors of myocardial infarction. *Atherosclerosis* 1991; 90:67-80
- 432 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; 43:431-437
- 433 Stampfer MJ, Krauss RM, Ma J, et al. A prospective study of triglyceride level, low-density lipoprotein particle diameter, and risk of myocardial infarction. *Jama* 1996; 276:882-888
- 434 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. Prospective results from the Quebec Cardiovascular Study. *Circulation* 1997; 95:69-75
- 435 Gardner CD, Fortmann SP, Krauss RM. Association of small low-density lipoprotein particles with the incidence of coronary artery disease in men and women. *Jama* 1996; 276:875-881
- 436 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; 189:206-214
- 437 Moon JY, Kwon HM, Kwon SW, et al. Lipoprotein(a) and LDL particle size are related to the severity of coronary artery disease. *Cardiology* 2007; 108:282-289

- 438 Arsenault BJ, Lemieux I, Despres JP, et al. Cholesterol levels in small LDL particles predict the risk of coronary heart disease in the EPIC-Norfolk prospective population study. *Eur Heart J* 2007; 28:2770-2777
- 439 Sniderman AD. How, when, and why to use apolipoprotein B in clinical practice. *Am J Cardiol* 2002; 90:48i-54i
- 440 Lamarche B, Moorjani S, Lupien PJ, et al. Apolipoprotein A-I and B levels and the risk of ischemic heart disease during a five-year follow-up of men in the Quebec cardiovascular study. *Circulation* 1996; 94:273-278
- 441 Sniderman AD, Scantlebury T, Cianflone K. Hypertriglyceridemic hyperapob: the unappreciated atherogenic dyslipoproteinemia in type 2 diabetes mellitus. *Ann Intern Med* 2001; 135:447-459
- 442 Barter PJ, Ballantyne CM, Carmena R, et al. Apo B versus cholesterol in estimating cardiovascular risk and in guiding therapy: report of the thirty-person/ten-country panel. *J Intern Med* 2006; 259:247-258
- 443 Kuller L, Arnold A, Tracy R, et al. Nuclear magnetic resonance spectroscopy of lipoproteins and risk of coronary heart disease in the cardiovascular health study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22:1175-1180
- 444 Otvos JD, Jeyarajah EJ, Cromwell WC. Measurement issues related to lipoprotein heterogeneity. *Am J Cardiol* 2002; 90:22i-29i
- 445 Skoglund-Andersson C, Tang R, Bond MG, et al. LDL particle size distribution is associated with carotid intima-media thickness in healthy 50-year-old men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19:2422-2430
- 446 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
- 447 van Tits LJ, Smilde TJ, van Wissen S, et al. Effects of atorvastatin and simvastatin on low-density lipoprotein subfraction profile, low-density lipoprotein oxidizability, and antibodies to oxidized low-density lipoprotein in relation to carotid intima media thickness in familial hypercholesterolemia. *J Investig Med* 2004; 52:177-184
- 448 O'Neal DN, Lewicki J, Ansari MZ, et al. Lipid levels and peripheral vascular disease in diabetic and non-diabetic subjects. *Atherosclerosis* 1998; 136:1-8

- 449 Rizzo M, Pernice V, Frasheri A, et al. Atherogenic lipoprotein phenotype and LDL size and subclasses in patients with peripheral arterial disease. *Atherosclerosis* 2008; 197:237-241
- 450 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; 15:1043-1048
- 451 Gray RS, Robbins DC, Wang W, et al. Relation of LDL size to the insulin resistance syndrome and coronary heart disease in American Indians. The Strong Heart Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17:2713-2720
- 452 Campos H, Moye LA, Glasser SP, et al. Low-density lipoprotein size, pravastatin treatment, and coronary events. *Jama* 2001; 286:1468-1474
- 453 Nuttall SL, Heaton S, Piper MK, et al. Cardiovascular risk in systemic lupus erythematosus--evidence of increased oxidative stress and dyslipidaemia. *Rheumatology (Oxford)* 2003; 42:758-762
- 454 Hurt-Camejo E, Paredes S, Masana L, et al. Elevated levels of small, low-density lipoprotein with high affinity for arterial matrix components in patients with rheumatoid arthritis: possible contribution of phospholipase A2 to this atherogenic profile. *Arthritis Rheum* 2001; 44:2761-2767
- 455 Feingold KR, Krauss RM, Pang M, et al. The hypertriglyceridemia of acquired immunodeficiency syndrome is associated with an increased prevalence of low density lipoprotein subclass pattern B. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 76:1423-1427
- 456 Sposito AC, Caramelli B, Sartori AM, et al. The Lipoprotein Profile in HIV Infected Patients. *Braz J Infect Dis* 1997; 1:275-283
- 457 Badiou S, Merle De Boever C, Dupuy AM, et al. Decrease in LDL size in HIV-positive adults before and after lopinavir/ritonavir-containing regimen: an index of atherogenicity? *Atherosclerosis* 2003; 168:107-113
- 458 Riddler SA, Li X, Otvos J, et al. Antiretroviral therapy is associated with an atherogenic lipoprotein phenotype among HIV-1-infected men in the Multicenter AIDS Cohort Study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2008; 48:281-288
- 459 Rufail ML, Schenkein HA, Barbour SE, et al. Altered lipoprotein subclass distribution and PAF-AH activity in subjects with generalized aggressive periodontitis. *J Lipid Res* 2005; 46:2752-2760

- 460 Rufail ML, Schenkein HA, Koertge TE, et al. Atherogenic lipoprotein parameters in patients with aggressive periodontitis. *J Periodontal Res* 2007; 42:495-502
- 461 Kim J, Park HH, Choi I, et al. Severely modified lipoprotein properties without a change in cholesteryl ester transfer protein activity in patients with acute renal failure secondary to Hantaan virus infection. *BMB Rep*; 43:535-540
- 462 Shinohara E, Yamashita S, Kihara S, et al. Interferon alpha induces disorder of lipid metabolism by lowering postheparin lipases and cholesteryl ester transfer protein activities in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 1997; 25:1502-1506
- 463 Iglesias A, Contreras JA, Martinez-Pardo M, et al. Cholesteryl ester transfer activity in lipoprotein lipase deficiency and other primary hypertriglyceridemias. *Clin Chim Acta* 1993; 221:73-89
- 464 Georgiadis AN, Papavasiliou EC, Lourida ES, et al. Atherogenic lipid profile is a feature characteristic of patients with early rheumatoid arthritis: effect of early treatment--a prospective, controlled study. *Arthritis Res Ther* 2006; 8:R82
- 465 Stafforini DM, Prescott SM, McIntyre TM. Human plasma platelet-activating factor acetylhydrolase. Purification and properties. *J Biol Chem* 1987; 262:4223-4230
- 466 Steinbrecher UP, Pritchard PH. Hydrolysis of phosphatidylcholine during LDL oxidation is mediated by platelet-activating factor acetylhydrolase. *J Lipid Res* 1989; 30:305-315
- 467 Tsoukatos DC, Liapikos TA, Tselepis AD, et al. Platelet-activating factor acetylhydrolase and transacetylase activities in human plasma low-density lipoprotein. *Biochem J* 2001; 357:457-464
- 468 Farr RS, Cox CP, Wardlow ML, et al. Preliminary studies of an acid-labile factor (ALF) in human sera that inactivates platelet-activating factor (PAF). *Clin Immunol Immunopathol* 1980; 15:318-330
- 469 Tjoelker LW, Wilder C, Eberhardt C, et al. Anti-inflammatory properties of a platelet-activating factor acetylhydrolase. *Nature* 1995; 374:549-553
- 470 Tew DG, Southan C, Rice SQ, et al. Purification, properties, sequencing, and cloning of a lipoprotein-associated, serine-dependent phospholipase involved

- in the oxidative modification of low-density lipoproteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996; 16:591-599
- 471 Miwa M, Miyake T, Yamanaka T, et al. Characterization of serum platelet-activating factor (PAF) acetylhydrolase. Correlation between deficiency of serum PAF acetylhydrolase and respiratory symptoms in asthmatic children. *J Clin Invest* 1988; 82:1983-1991
- 472 Yamada Y, Yokota M. Loss of activity of plasma platelet-activating factor acetylhydrolase due to a novel Gln281-->Arg mutation. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 236:772-775
- 473 Kruse S, Mao XQ, Heinzmann A, et al. The Ile198Thr and Ala379Val variants of plasmatic PAF-acetylhydrolase impair catalytical activities and are associated with atopy and asthma. *Am J Hum Genet* 2000; 66:1522-1530
- 474 Bell R, Collier DA, Rice SQ, et al. Systematic screening of the LDL-PLA2 gene for polymorphic variants and case-control analysis in schizophrenia. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 241:630-635
- 475 Rubin AH, Smith LJ, Patterson R. The bronchoconstrictor properties of platelet-activating factor in humans. *Am Rev Respir Dis* 1987; 136:1145-1151
- 476 Svetlov SI, Sturm E, Olson MS, et al. Hepatic regulation of platelet-activating factor acetylhydrolase and lecithin:cholesterol acyltransferase biliary and plasma output in rats exposed to bacterial lipopolysaccharide. *Hepatology* 1999; 30:128-136
- 477 Pritchard PH, Chonn A, Yeung CC. The degradation of platelet-activating factor in the plasma of a patient with familial high density lipoprotein deficiency (Tangier disease). *Blood* 1985; 66:1476-1478
- 478 Lee C, Sigari F, Segrado T, et al. All ApoB-containing lipoproteins induce monocyte chemotaxis and adhesion when minimally modified. Modulation of lipoprotein bioactivity by platelet-activating factor acetylhydrolase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19:1437-1446
- 479 Tselepis AD, Dentan C, Karabina SA, et al. PAF-degrading acetylhydrolase is preferentially associated with dense LDL and VHDL-1 in human plasma. Catalytic characteristics and relation to the monocyte-derived enzyme. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15:1764-1773

- 480 Stafforini DM. Biology of platelet-activating factor acetylhydrolase (PAF-AH, lipoprotein associated phospholipase A2). *Cardiovasc Drugs Ther* 2009; 23:73-83
- 481 Gaubatz JW, Gillard BK, Massey JB, et al. Dynamics of dense electronegative low density lipoproteins and their preferential association with lipoprotein phospholipase A(2). *J Lipid Res* 2007; 48:348-357
- 482 Blencowe C, Hermetter A, Kostner GM, et al. Enhanced association of platelet-activating factor acetylhydrolase with lipoprotein (a) in comparison with low density lipoprotein. *J Biol Chem* 1995; 270:31151-31157
- 483 Guerra R, Zhao B, Mooser V, et al. Determinants of plasma platelet-activating factor acetylhydrolase: heritability and relationship to plasma lipoproteins. *J Lipid Res* 1997; 38:2281-2288
- 484 Tsimihodimos V, Karabina SA, Tambaki AP, et al. Altered distribution of platelet-activating factor- acetylhydrolase activity between LDL and HDL as a function of the severity of hypercholesterolemia. *J Lipid Res* 2002; 43:256-263
- 485 Caslake MJ, Packard CJ, Suckling KE, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A(2), platelet-activating factor acetylhydrolase: a potential new risk factor for coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2000; 150:413-419
- 486 Wu X, McIntyre TM, Zimmerman GA, et al. Molecular characterization of the constitutive expression of the plasma platelet-activating factor acetylhydrolase gene in macrophages. *Biochem J* 2003; 375:351-363
- 487 Yasuda K, Johnston JM. The hormonal regulation of platelet-activating factor-acetylhydrolase in the rat. *Endocrinology* 1992; 130:708-716
- 488 Maki N, Hoffman DR, Johnston JM. Platelet-activating factor acetylhydrolase activity in maternal, fetal, and newborn rabbit plasma during pregnancy and lactation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988; 85:728-732
- 489 Kosaka T, Yamaguchi M, Miyanaga K, et al. Serum platelet-activating factor acetylhydrolase (PAF-AH) activity in more than 3000 healthy Japanese. *Clin Chim Acta* 2001; 312:179-183
- 490 Hessler JR, Morel DW, Lewis LJ, et al. Lipoprotein oxidation and lipoprotein-induced cytotoxicity. *Arteriosclerosis* 1983; 3:215-222
- 491 Schmitt A, Negre-Salvayre A, Trolly M, et al. Phospholipid hydrolysis of mildly oxidized LDL reduces their cytotoxicity to cultured endothelial cells.

- Potential protective role against atherogenesis. *Biochim Biophys Acta* 1995; 1256:284-292
- 492 Lerman A, McConnell JP. Lipoprotein-associated phospholipase A2: a risk marker or a risk factor? *Am J Cardiol* 2008; 101:11F-22F
- 493 MacPhee CH, Moores KE, Boyd HF, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2, platelet-activating factor acetylhydrolase, generates two bioactive products during the oxidation of low-density lipoprotein: use of a novel inhibitor. *Biochem J* 1999; 338 ( Pt 2):479-487
- 494 Wu R, Huang YH, Elinder LS, et al. Lysophosphatidylcholine is involved in the antigenicity of oxidized LDL. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18:626-630
- 495 Kume N, Gimbrone MA, Jr. Lysophosphatidylcholine transcriptionally induces growth factor gene expression in cultured human endothelial cells. *J Clin Invest* 1994; 93:907-911
- 496 Sakai M, Miyazaki A, Hakamata H, et al. Lysophosphatidylcholine plays an essential role in the mitogenic effect of oxidized low density lipoprotein on murine macrophages. *J Biol Chem* 1994; 269:31430-31435
- 497 Kume N, Cybulsky MI, Gimbrone MA, Jr. Lysophosphatidylcholine, a component of atherogenic lipoproteins, induces mononuclear leukocyte adhesion molecules in cultured human and rabbit arterial endothelial cells. *J Clin Invest* 1992; 90:1138-1144
- 498 Quinn MT, Parthasarathy S, Fong LG, et al. Oxidatively modified low density lipoproteins: a potential role in recruitment and retention of monocyte/macrophages during atherogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987; 84:2995-2998
- 499 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
- 500 Zalewski A, Macphee C. Role of lipoprotein-associated phospholipase A2 in atherosclerosis: biology, epidemiology, and possible therapeutic target. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25:923-931

- 501 Zalewski A, Nelson JJ, Hegg L, et al. Lp-PLA2: a new kid on the block. *Clin Chem* 2006; 52:1645-1650
- 502 Davidson MH, Corson MA, Alberts MJ, et al. Consensus panel recommendation for incorporating lipoprotein-associated phospholipase A2 testing into cardiovascular disease risk assessment guidelines. *Am J Cardiol* 2008; 101:51F-57F
- 503 Navab M, Hama SY, Hough GP, et al. High density associated enzymes: their role in vascular biology. *Curr Opin Lipidol* 1998; 9:449-456
- 504 Rodrigo L, Mackness B, Durrington PN, et al. Hydrolysis of platelet-activating factor by human serum paraoxonase. *Biochem J* 2001; 354:1-7
- 505 Kakafika AI, Xenofontos S, Tsimihodimos V, et al. The PON1 M55L gene polymorphism is associated with reduced HDL-associated PAF-AH activity. *J Lipid Res* 2003; 44:1919-1926
- 506 Tselepis AD, John Chapman M. Inflammation, bioactive lipids and atherosclerosis: potential roles of a lipoprotein-associated phospholipase A2, platelet activating factor-acetylhydrolase. *Atheroscler Suppl* 2002; 3:57-68
- 507 Graham RM, Stephens CJ, Silvester W, et al. Plasma degradation of platelet-activating factor in severely ill patients with clinical sepsis. *Crit Care Med* 1994; 22:204-212
- 508 Endo S, Inada K, Yamashita H, et al. Platelet-activating factor (PAF) acetylhydrolase activity, type II phospholipase A2, and cytokine levels in patients with sepsis. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1994; 83:289-295
- 509 Trimoreau F, Francois B, Desachy A, et al. Platelet-activating factor acetylhydrolase and haemophagocytosis in the sepsis syndrome. *Mediators Inflamm* 2000; 9:197-200
- 510 Nakae H, Endo S, Inada K, et al. Nitrite/nitrate (NOX) and type II phospholipase A2, leukotriene B4, and platelet-activating factor levels in patients with septic shock. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 1996; 92:131-139
- 511 Khovidhunkit W, Memon RA, Shigenaga JK, et al. Plasma platelet-activating factor acetylhydrolase activity in human immunodeficiency virus infection and the acquired immunodeficiency syndrome. *Metabolism* 1999; 48:1524-1531



- 512 Losche W, Marshal GJ, Apatzidou DA, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 and plasma lipids in patients with destructive periodontal disease. *J Clin Periodontol* 2005; 32:640-644
- 513 Caini P, Guerra CT, Giannini C, et al. Modifications of plasma platelet-activating factor (PAF)-acetylhydrolase/PAF system activity in patients with chronic hepatitis C virus infection. *J Viral Hepat* 2007; 14:22-28
- 514 Howard KM, Olson MS. The expression and localization of plasma platelet-activating factor acetylhydrolase in endotoxemic rats. *J Biol Chem* 2000; 275:19891-19896
- 515 Memon RA, Fuller J, Moser AH, et al. In vivo regulation of plasma platelet-activating factor acetylhydrolase during the acute phase response. *Am J Physiol* 1999; 277:R94-103
- 516 Stafforini DM, Elstad MR, McIntyre TM, et al. Human macrophages secrete platelet-activating factor acetylhydrolase. *J Biol Chem* 1990; 265:9682-9687
- 517 Howard KM, Miller JE, Miwa M, et al. Cell-specific regulation of expression of plasma-type platelet-activating factor acetylhydrolase in the liver. *J Biol Chem* 1997; 272:27543-27548
- 518 Cao Y, Stafforini DM, Zimmerman GA, et al. Expression of plasma platelet-activating factor acetylhydrolase is transcriptionally regulated by mediators of inflammation. *J Biol Chem* 1998; 273:4012-4020
- 519 Satoh K, Imaizumi T, Kawamura Y, et al. Platelet-activating factor (PAF) stimulates the production of PAF acetylhydrolase by the human hepatoma cell line, HepG2. *J Clin Invest* 1991; 87:476-481
- 520 Tjoelker LW, Stafforini DM. Platelet-activating factor acetylhydrolases in health and disease. *Biochim Biophys Acta* 2000; 1488:102-123
- 521 Durrington PN, Mackness B, Mackness MI. Paraoxonase and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21:473-480
- 522 Harel M, Aharoni A, Gaidukov L, et al. Structure and evolution of the serum paraoxonase family of detoxifying and anti-atherosclerotic enzymes. *Nat Struct Mol Biol* 2004; 11:412-419
- 523 Blatter MC, James RW, Messmer S, et al. Identification of a distinct human high-density lipoprotein subspecies defined by a lipoprotein-associated protein, K-45. Identity of K-45 with paraoxonase. *Eur J Biochem* 1993; 211:871-879

- 524 Kelso GJ, Stuart WD, Richter RJ, et al. Apolipoprotein J is associated with paraoxonase in human plasma. *Biochemistry* 1994; 33:832-839
- 525 Mackness MI, Walker CH. 'A'-esterase activity in the lipoprotein fraction of sheep serum. *Biochem Pharmacol* 1981; 30:903-906
- 526 Li WF, Costa LG, Furlong CE. Serum paraoxonase status: a major factor in determining resistance to organophosphates. *J Toxicol Environ Health* 1993; 40:337-346
- 527 Mackness MI, Arrol S, Durrington PN. Paraoxonase prevents accumulation of lipoperoxides in low-density lipoprotein. *FEBS Lett* 1991; 286:152-154
- 528 Mackness MI, Abbott C, Arrol S, et al. The role of high-density lipoprotein and lipid-soluble antioxidant vitamins in inhibiting low-density lipoprotein oxidation. *Biochem J* 1993; 294 ( Pt 3):829-834
- 529 Watson AD, Berliner JA, Hama SY, et al. Protective effect of high density lipoprotein associated paraoxonase. Inhibition of the biological activity of minimally oxidized low density lipoprotein. *J Clin Invest* 1995; 96:2882-2891
- 530 Aviram M, Rosenblat M, Bisgaier CL, et al. Paraoxonase inhibits high-density lipoprotein oxidation and preserves its functions. A possible peroxidative role for paraoxonase. *J Clin Invest* 1998; 101:1581-1590
- 531 Mackness MI, Durrington PN. HDL, its enzymes and its potential to influence lipid peroxidation. *Atherosclerosis* 1995; 115:243-253
- 532 Aviram M, Hardak E, Vaya J, et al. Human serum paraoxonases (PON1) Q and R selectively decrease lipid peroxides in human coronary and carotid atherosclerotic lesions: PON1 esterase and peroxidase-like activities. *Circulation* 2000; 101:2510-2517
- 533 Primo-Parmo SL, Sorenson RC, Teiber J, et al. The human serum paraoxonase/arylesterase gene (PON1) is one member of a multigene family. *Genomics* 1996; 33:498-507
- 534 Adkins S, Gan KN, Mody M, et al. Molecular basis for the polymorphic forms of human serum paraoxonase/arylesterase: glutamine or arginine at position 191, for the respective A or B allozymes. *Am J Hum Genet* 1993; 52:598-608
- 535 Garin MC, James RW, Dussoix P, et al. Paraoxonase polymorphism Met-Leu54 is associated with modified serum concentrations of the enzyme. A possible link between the paraoxonase gene and increased risk of cardiovascular disease in diabetes. *J Clin Invest* 1997; 99:62-66

- 536 Leviev I, Negro F, James RW. Two alleles of the human paraoxonase gene produce different amounts of mRNA. An explanation for differences in serum concentrations of paraoxonase associated with the (Leu-Met54) polymorphism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17:2935-2939
- 537 Suehiro T, Nakamura T, Inoue M, et al. A polymorphism upstream from the human paraoxonase (PON1) gene and its association with PON1 expression. *Atherosclerosis* 2000; 150:295-298
- 538 Leviev I, James RW. Promoter polymorphisms of human paraoxonase PON1 gene and serum paraoxonase activities and concentrations. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20:516-521
- 539 Brophy VH, Hastings MD, Clendenning JB, et al. Polymorphisms in the human paraoxonase (PON1) promoter. *Pharmacogenetics* 2001; 11:77-84
- 540 Mackness MI, Harty D, Bhatnagar D, et al. Serum paraoxonase activity in familial hypercholesterolaemia and insulin-dependent diabetes mellitus. *Atherosclerosis* 1991; 86:193-199
- 541 Mackness M, Durrington P, Mackness B. Paraoxonase 1 activity, concentration and genotype in cardiovascular disease. *Curr Opin Lipidol* 2004; 15:399-404
- 542 Mackness B, Durrington PN, Mackness MI. Human serum paraoxonase. *Gen Pharmacol* 1998; 31:329-336
- 543 Mackness B, Durrington PN, Mackness MI. The paraoxonase gene family and coronary heart disease. *Curr Opin Lipidol* 2002; 13:357-362
- 544 Mackness M, Boullier A, Hennuyer N, et al. Paraoxonase activity is reduced by a pro-atherosclerotic diet in rabbits. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 269:232-236
- 545 Sutherland WH, Walker RJ, de Jong SA, et al. Reduced postprandial serum paraoxonase activity after a meal rich in used cooking fat. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19:1340-1347
- 546 Haley RW, Billecke S, La Du BN. Association of low PON1 type Q (type A) arylesterase activity with neurologic symptom complexes in Gulf War veterans. *Toxicol Appl Pharmacol* 1999; 157:227-233
- 547 Mackness B, Durrington PN, Mackness MI. Low paraoxonase in Persian Gulf War Veterans self-reporting Gulf War Syndrome. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 276:729-733

- 548 Ferre N, Camps J, Fernandez-Ballart J, et al. Regulation of serum paraoxonase activity by genetic, nutritional, and lifestyle factors in the general population. *Clin Chem* 2003; 49:1491-1497
- 549 Boemi M, Sirolla C, Testa R, et al. Smoking is associated with reduced serum levels of the antioxidant enzyme, paraoxonase, in Type 2 diabetic patients. *Diabet Med* 2004; 21:423-427
- 550 van der Gaag MS, van Tol A, Scheek LM, et al. Daily moderate alcohol consumption increases serum paraoxonase activity; a diet-controlled, randomised intervention study in middle-aged men. *Atherosclerosis* 1999; 147:405-410
- 551 Hayek T, Fuhrman B, Vaya J, et al. Reduced progression of atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice following consumption of red wine, or its polyphenols quercetin or catechin, is associated with reduced susceptibility of LDL to oxidation and aggregation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17:2744-2752
- 552 MacKness B, Mackness MI, Durrington PN, et al. Paraoxonase activity in two healthy populations with differing rates of coronary heart disease. *Eur J Clin Invest* 2000; 30:4-10
- 553 Mackness MI, Peuchant E, Dumon MF, et al. Absence of "A"-esterase activity in the serum of a patient with Tangier disease. *Clin Biochem* 1989; 22:475-478
- 554 James RW, Blatter Garin MC, Calabresi L, et al. Modulated serum activities and concentrations of paraoxonase in high density lipoprotein deficiency states. *Atherosclerosis* 1998; 139:77-82
- 555 Aviram M, Rosenblat M, Billecke S, et al. Human serum paraoxonase (PON 1) is inactivated by oxidized low density lipoprotein and preserved by antioxidants. *Free Radic Biol Med* 1999; 26:892-904
- 556 Hedrick CC, Thorpe SR, Fu MX, et al. Glycation impairs high-density lipoprotein function. *Diabetologia* 2000; 43:312-320
- 557 Durrington PN, Mackness B, Mackness MI. The hunt for nutritional and pharmacological modulators of paraoxonase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22:1248-1250

- 558 Aviram M, Rosenblat M, Bisgaier CL, et al. Atorvastatin and gemfibrozil metabolites, but not the parent drugs, are potent antioxidants against lipoprotein oxidation. *Atherosclerosis* 1998; 138:271-280
- 559 Paragh G, Seres I, Harangi M, et al. The effect of micronised fenofibrate on paraoxonase activity in patients with coronary heart disease. *Diabetes Metab* 2003; 29:613-618
- 560 Durrington PN, Mackness MI, Bhatnagar D, et al. Effects of two different fibric acid derivatives on lipoproteins, cholesteryl ester transfer, fibrinogen, plasminogen activator inhibitor and paraoxonase activity in type IIb hyperlipoproteinaemia. *Atherosclerosis* 1998; 138:217-225
- 561 Tomas M, Senti M, Garcia-Faria F, et al. Effect of simvastatin therapy on paraoxonase activity and related lipoproteins in familial hypercholesterolemic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20:2113-2119
- 562 Deakin S, Leviev I, Guernier S, et al. Simvastatin modulates expression of the PON1 gene and increases serum paraoxonase: a role for sterol regulatory element-binding protein-2. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23:2083-2089
- 563 Beltowski J, Wojcicka G, Jamroz A. Leptin decreases plasma paraoxonase 1 (PON1) activity and induces oxidative stress: the possible novel mechanism for proatherogenic effect of chronic hyperleptinemia. *Atherosclerosis* 2003; 170:21-29
- 564 Kleemola P, Freese R, Jauhiainen M, et al. Dietary determinants of serum paraoxonase activity in healthy humans. *Atherosclerosis* 2002; 160:425-432
- 565 Arrol S, Mackness MI, Durrington PN. Vitamin E supplementation increases the resistance of both LDL and HDL to oxidation and increases cholesteryl ester transfer activity. *Atherosclerosis* 2000; 150:129-134
- 566 Mackness MI, Mackness B, Durrington PN. Paraoxonase and coronary heart disease. *Atheroscler Suppl* 2002; 3:49-55
- 567 Mackness B, Davies GK, Turkie W, et al. Paraoxonase status in coronary heart disease: are activity and concentration more important than genotype? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21:1451-1457
- 568 Jarvik GP, Rozek LS, Brophy VH, et al. Paraoxonase (PON1) phenotype is a better predictor of vascular disease than is PON1(192) or PON1(55) genotype. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20:2441-2447

- 569 McElveen J, Mackness MI, Colley CM, et al. Distribution of paraoxon hydrolytic activity in the serum of patients after myocardial infarction. *Clin Chem* 1986; 32:671-673
- 570 Ayub A, Mackness MI, Arrol S, et al. Serum paraoxonase after myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19:330-335
- 571 Mackness B, Durrington P, McElduff P, et al. Low paraoxonase activity predicts coronary events in the Caerphilly Prospective Study. *Circulation* 2003; 107:2775-2779
- 572 Wheeler JG, Keavney BD, Watkins H, et al. Four paraoxonase gene polymorphisms in 11212 cases of coronary heart disease and 12786 controls: meta-analysis of 43 studies. *Lancet* 2004; 363:689-695
- 573 Dantoine TF, Debord J, Charmes JP, et al. Decrease of serum paraoxonase activity in chronic renal failure. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9:2082-2088
- 574 Hasselwander O, McMaster D, Fogarty DG, et al. Serum paraoxonase and platelet-activating factor acetylhydrolase in chronic renal failure. *Clin Chem* 1998; 44:179-181
- 575 Akhmedova S, Anisimov S, Yakimovsky A, et al. Gln --> Arg 191 polymorphism of paraoxonase and Parkinson's disease. *Hum Hered* 1999; 49:178-180
- 576 Helbecque N, Cottel D, Codron V, et al. Paraoxonase 1 gene polymorphisms and dementia in humans. *Neurosci Lett* 2004; 358:41-44
- 577 Sklan EH, Lowenthal A, Korner M, et al. Acetylcholinesterase/paraoxonase genotype and expression predict anxiety scores in Health, Risk Factors, Exercise Training, and Genetics study. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101:5512-5517
- 578 Abbott CA, Mackness MI, Kumar S, et al. Serum paraoxonase activity, concentration, and phenotype distribution in diabetes mellitus and its relationship to serum lipids and lipoproteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15:1812-1818
- 579 Kumru S, Aydin S, Gursu MF, et al. Changes of serum paraoxonase (an HDL-cholesterol-associated lipophilic antioxidant) and arylesterase activities in severe preeclamptic women. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2004; 114:177-181

- 580 Senti M, Tomas M, Fito M, et al. Antioxidant paraoxonase 1 activity in the metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88:5422-5426
- 581 Raiszadeh F, Solati M, Etemadi A, et al. Serum paraoxonase activity before and after treatment of thyrotoxicosis. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2004; 60:75-80
- 582 Ferre N, Camps J, Prats E, et al. Serum paraoxonase activity: a new additional test for the improved evaluation of chronic liver damage. *Clin Chem* 2002; 48:261-268
- 583 Ali EM, Shehata HH, Ali-Labib R, et al. Oxidant and antioxidant of arylesterase and paraoxonase as biomarkers in patients with hepatitis C virus. *Clin Biochem* 2009
- 584 Schulpis KH, Barzeliotou A, Papadakis M, et al. Maternal chronic hepatitis B virus is implicated with low neonatal paraoxonase/arylesterase activities. *Clin Biochem* 2008; 41:282-287
- 585 Kilic SS, Aydin S, Kilic N, et al. Serum arylesterase and paraoxonase activity in patients with chronic hepatitis. *World J Gastroenterol* 2005; 11:7351-7354
- 586 Selek S, Cosar N, Kocyigit A, et al. PON1 activity and total oxidant status in patients with active pulmonary tuberculosis. *Clin Biochem* 2008; 41:140-144
- 587 Parra S, Alonso-Villaverde C, Coll B, et al. Serum paraoxonase-1 activity and concentration are influenced by human immunodeficiency virus infection. *Atherosclerosis* 2007; 194:175-181
- 588 Aslan M, Nazligul Y, Horoz M, et al. Serum paraoxonase-1 activity in *Helicobacter pylori* infected subjects. *Atherosclerosis* 2008; 196:270-274
- 589 Farid AS, Nakahara K, Murakami N, et al. Decreased serum paraoxonase-1 activity during intestinal nematode (*Nippostrongylus brasiliensis*) infection in rats. *Am J Trop Med Hyg* 2008; 78:770-776
- 590 Feingold KR, Memon RA, Moser AH, et al. Paraoxonase activity in the serum and hepatic mRNA levels decrease during the acute phase response. *Atherosclerosis* 1998; 139:307-315
- 591 Kumon Y, Suehiro T, Ikeda Y, et al. Human paraoxonase-1 gene expression by HepG2 cells is downregulated by interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha, but is upregulated by interleukin-6. *Life Sci* 2003; 73:2807-2815
- 592 Kumon Y, Nakauchi Y, Suehiro T, et al. Proinflammatory cytokines but not acute phase serum amyloid A or C-reactive protein, downregulate paraoxonase 1 (PON1) expression by HepG2 cells. *Amyloid* 2002; 9:160-164

- 593 Van Lenten BJ, Wagner AC, Navab M, et al. Oxidized phospholipids induce changes in hepatic paraoxonase and ApoJ but not monocyte chemoattractant protein-1 via interleukin-6. *J Biol Chem* 2001; 276:1923-1929
- 594 Alonzi T, Fattori E, Lazzaro D, et al. Interleukin 6 is required for the development of collagen-induced arthritis. *J Exp Med* 1998; 187:461-468
- 595 Eugui EM, DeLustro B, Rouhafza S, et al. Some antioxidants inhibit, in a coordinate fashion, the production of tumor necrosis factor-alpha, IL-beta, and IL-6 by human peripheral blood mononuclear cells. *Int Immunol* 1994; 6:409-422
- 596 Stoltz DA, Ozer EA, Taft PJ, et al. *Drosophila* are protected from *Pseudomonas aeruginosa* lethality by transgenic expression of paraoxonase-1. *J Clin Invest* 2008; 118:3123-3131
- 597 Ma F, Wang Y, Zhang Y, et al. Heterologous expression of human paraoxonases in *Pseudomonas aeruginosa* inhibits biofilm formation and decreases antibiotic resistance. *Appl Microbiol Biotechnol* 2009; 83:135-141
- 598 Sinan S, Kockar F, Gencer N, et al. Amphenicol and macrolide derived antibiotics inhibit paraoxonase enzyme activity in human serum and human hepatoma cells (HepG2) in vitro. *Biochemistry (Mosc)* 2006; 71:46-50
- 599 Sinan S, Kockar F, Arslan O. Novel purification strategy for human PON1 and inhibition of the activity by cephalosporin and aminoglikozide derived antibiotics. *Biochimie* 2006; 88:565-574
- 600 Boschioli ML, Foulongne V, O'Callaghan D. Brucellosis: a worldwide zoonosis. *Curr Opin Microbiol* 2001; 4:58-64
- 601 Pappas G, Akritidis N, Bosilkovski M, et al. Brucellosis. *N Engl J Med* 2005; 352:2325-2336
- 602 Mantur BG, Amarnath SK, Shinde RS. Review of clinical and laboratory features of human brucellosis. *Indian J Med Microbiol* 2007; 25:188-202
- 603 Naparstek E, Block CS, Slavin S. Transmission of brucellosis by bone marrow transplantation. *Lancet* 1982; 1:574-575
- 604 Mantur BG, Mangalgi SS, Mulimani M. *Brucella melitensis*--a sexually transmissible agent? *Lancet* 1996; 347:1763
- 605 Georghiou PR, Young EJ. Prolonged incubation in brucellosis. *Lancet* 1991; 337:1543



- 606 Bravo MJ, de Dios Colmenero J, Alonso A, et al. Polymorphisms of the interferon gamma and interleukin 10 genes in human brucellosis. *Eur J Immunogenet* 2003; 30:433-435
- 607 Ahmed K, Al-Matrouk KA, Martinez G, et al. Increased serum levels of interferon-gamma and interleukin-12 during human brucellosis. *Am J Trop Med Hyg* 1999; 61:425-427
- 608 Zhan Y, Cheers C. Endogenous interleukin-12 is involved in resistance to *Brucella abortus* infection. *Infect Immun* 1995; 63:1387-1390
- 609 Jubier-Maurin V, Boigegrain RA, Cloeckaert A, et al. Major outer membrane protein Omp25 of *Brucella suis* is involved in inhibition of tumor necrosis factor alpha production during infection of human macrophages. *Infect Immun* 2001; 69:4823-4830
- 610 Demirdag K, Ozden M, Kalkan A, et al. Serum cytokine levels in patients with acute brucellosis and their relation to the traditional inflammatory markers. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2003; 39:149-153
- 611 Ariza J, Bosilkovski M, Cascio A, et al. Perspectives for the treatment of brucellosis in the 21st century: the Ioannina recommendations. *PLoS Med* 2007; 4:e317
- 612 Skalsky K, Yahav D, Bishara J, et al. Treatment of human brucellosis: systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *Bmj* 2008; 336:701-704
- 613 Bornkamm GW, Delius H, Zimmer U, et al. Comparison of Epstein-Barr virus strains of different origin by analysis of the viral DNAs. *J Virol* 1980; 35:603-618
- 614 Cohen JL. Epstein-Barr virus infection. *N Engl J Med* 2000; 343:481-492
- 615 Ebell MH. Epstein-Barr virus infectious mononucleosis. *Am Fam Physician* 2004; 70:1279-1287
- 616 Pitetti RD, Laus S, Wadowsky RM. Clinical evaluation of a quantitative real time polymerase chain reaction assay for diagnosis of primary Epstein-Barr virus infection in children. *Pediatr Infect Dis J* 2003; 22:736-739
- 617 Jenson HB. Acute complications of Epstein-Barr virus infectious mononucleosis. *Curr Opin Pediatr* 2000; 12:263-268
- 618 Luzuriaga K, Sullivan JL. Infectious mononucleosis. *N Engl J Med*; 362:1993-2000

- 619 Lei PS, Lowichik A, Allen W, et al. Acute renal failure: unusual complication of Epstein-Barr virus-induced infectious mononucleosis. *Clin Infect Dis* 2000; 31:1519-1524
- 620 Hudson LB, Perlman SE. Necrotizing genital ulcerations in a premenarcheal female with mononucleosis. *Obstet Gynecol* 1998; 92:642-644
- 621 Vijayachari P, Sugunan AP, Shriram AN. Leptospirosis: an emerging global public health problem. *J Biosci* 2008; 33:557-569
- 622 Esen S, Sunbul M, Leblebicioglu H, et al. Impact of clinical and laboratory findings on prognosis in leptospirosis. *Swiss Med Wkly* 2004; 134:347-352
- 623 Berman SJ, Tsai CC, Holmes K, et al. Sporadic anicteric leptospirosis in South Vietnam. A study in 150 patients. *Ann Intern Med* 1973; 79:167-173
- 624 Arean VM. The pathologic anatomy and pathogenesis of fatal human leptospirosis (Weil's disease). *Am J Pathol* 1962; 40:393-423
- 625 Katz AR, Ansdell VE, Effler PV, et al. Assessment of the clinical presentation and treatment of 353 cases of laboratory-confirmed leptospirosis in Hawaii, 1974-1998. *Clin Infect Dis* 2001; 33:1834-1841
- 626 Winslow WE, Merry DJ, Pirc ML, et al. Evaluation of a commercial enzyme-linked immunosorbent assay for detection of immunoglobulin M antibody in diagnosis of human leptospiral infection. *J Clin Microbiol* 1997; 35:1938-1942
- 627 Levett PN, Whittington CU. Evaluation of the indirect hemagglutination assay for diagnosis of acute leptospirosis. *J Clin Microbiol* 1998; 36:11-14
- 628 Suputtamongkol Y, Niwattayakul K, Suttinont C, et al. An open, randomized, controlled trial of penicillin, doxycycline, and cefotaxime for patients with severe leptospirosis. *Clin Infect Dis* 2004; 39:1417-1424
- 629 Rubin L. The serum lipoproteins in infectious mononucleosis. *Am J Med* 1954; 17:521-527
- 630 Cisternas JR, Milstein-Kuschnaroff T. The effect of human leptospirosis on the composition and concentration of serum lipids and lipoproteins. *Braz J Med Biol Res* 1987; 20:149-159
- 631 Estavoyer JM, Stimmesse B, Ottignon Y, et al. Serum lipids in patients with leptospirosis. *J Infect Dis* 1984; 150:963-964
- 632 Vanaja R, Ratnam S, Vijayalakshmi KP. Lipid metabolic changes in experimentally induced leptospiral infection with serovars australis, canicola and icterohaemorrhagiae. *Indian J Exp Biol* 2001; 39:75-77

- 633 Liberopoulos E, Apostolou F, Elisaf M. Serum lipid profile in patients with severe leptospirosis. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19:1328-1329; author reply 1329-1330
- 634 Estavoyer JM, Ottignon Y, Stimmesse B, et al. [Demonstration of lipoprotein anomalies in leptospirosis. Prospective study in 10 patients]. *Pathol Biol (Paris)* 1985; 33:819-823
- 635 Yang J, Zhang Y, Xu J, et al. Serum activity of platelet-activating factor acetylhydrolase is a potential clinical marker for leptospirosis pulmonary hemorrhage. *PLoS One* 2009; 4:e4181
- 636 Kedage V, Muttigi MS, Shetty MS, et al. Serum paraoxonase 1 activity status in patients with liver disorders. *Saudi J Gastroenterol*; 16:79-83
- 637 Kazumi T, Kawaguchi A, Hozumi T, et al. Low density lipoprotein particle diameter in young, nonobese, normolipidemic Japanese men. *Atherosclerosis* 1999; 142:113-119
- 638 Wiesen P, Van Overmeire L, Delanaye P, et al. Nutrition disorders during acute renal failure and renal replacement therapy. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*; 35:217-222
- 639 Jin W, Sun GS, Marchadier D, et al. Endothelial cells secrete triglyceride lipase and phospholipase activities in response to cytokines as a result of endothelial lipase. *Circ Res* 2003; 92:644-650
- 640 Jaye M, Lynch KJ, Krawiec J, et al. A novel endothelial-derived lipase that modulates HDL metabolism. *Nat Genet* 1999; 21:424-428
- 641 van Dijk KW, Hofker MH, Havekes LM. Dissection of the complex role of apolipoprotein E in lipoprotein metabolism and atherosclerosis using mouse models. *Curr Atheroscler Rep* 1999; 1:101-107
- 642 Huang Y, Liu XQ, Rall SC, Jr., et al. Overexpression and accumulation of apolipoprotein E as a cause of hypertriglyceridemia. *J Biol Chem* 1998; 273:26388-26393
- 643 Gazi I, Tsimihodimos V, Filippatos T, et al. Concentration and relative distribution of low-density lipoprotein subfractions in patients with metabolic syndrome defined according to the National Cholesterol Education Program criteria. *Metabolism* 2006; 55:885-891

- 644 Tumorhuu G, Koide N, Takahashi K, et al. Characterization of biological activities of *Brucella melitensis* lipopolysaccharide. *Microbiol Immunol* 2006; 50:421-427
- 645 Casao MA, Diaz R, Orduna A, et al. Promotion of platelet aggregation by sera from brucellosis patients with antiphosphatidylcholine antibodies. *J Med Microbiol* 2001; 50:965-968
- 646 Gazi I, Lourida ES, Filippatos T, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 activity is a marker of small, dense LDL particles in human plasma. *Clin Chem* 2005; 51:2264-2273

